

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH CHEMICKÝCH
CHARAKTERISTIK OSTRUŽINOVÉ PULPY**

DETERMINATION OF BASIC CHEMICAL CHARACTERISTICS OF BLACKBERRY PULP

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Anna Pilátová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1110/2016
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Anna Pilátová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název bakalářské práce:

Stanovení základních chemických charakteristik ostružinové pulpy

Zadání bakalářské práce:

Teoretická část:

- 1) Stručná charakteristika rostlinného druhu *Rubus fruticosus* agg. (ostružiník křovitý)
- 2) Biologicky aktivní látky obsažené v ostružinách
- 3) Využití ostružin v potravinářském průmyslu
- 4) pH a titrační kyselost ovocných šťáv a jejich stanovení manuálními metodami

Experimentální část:

- 1) Příprava pulpy a šťávy z ostružin
- 2) Stanovení vybraných chemických charakteristik připravených ostružinových polotovarů
- 3) Zpracování získaných dat a interpretace výsledků

Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Anna Pilátová
student(ka)

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá stanovením vybraných chemických charakteristik šťávy, pulpy a extraktu připravených z plodů ostružiníků dvou druhů, českých a ukrajinských.

Teoretická část obsahuje botanickou charakteristiku ostružiníku křovitého, obsah účinných látek v jeho plodech a možnosti využití ostružin v potravinářství. Další kapitoly jsou věnovány popisu fenolických látek a postupům stanovení pH a titrační kyselosti ovocných šťáv manuálními metodami.

V experimentální části byla porovnána 2 extrakční činidla pro extrakce anthokyanových barviv z ostružinových výlisků. Dále byly stanoveny vybrané chemické a fyzikální vlastnosti získaných extraktů, ostružinové šťávy a pulpy z ostružin. Analyzovány byly jednak české ostružiny a jednak ostružiny sbírané ve volné přírodě na Ukrajině.

Z hlediska obsahu anthokyanových barviv byla lepším extrakčním činidlem směs destilované vody a ethanolu v poměru 1 : 1. Po 14 hod. macerace bylo získáno ze 100,0 g ostružinových výlisků 150,4 mg anthokyanových barviv.

U extraktů z ostružinových výlisků byla stanovena mnohonásobně vyšší koncentrace anthokyanových barviv než u vzorků šťávy a pulpy. Extrakt z ukrajinských ostružin obsahoval 197,4 mg CGE·dm⁻³ a extrakt z českých ostružin 150,4 mg CGE·dm⁻³.

I fenolických látek bylo nejvíce stanoveno v extraktech. U ukrajinských ostružin to bylo 3501,9 mg GAE·dm⁻³ a u českých 3256,1 mg GAE·dm⁻³.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus agg.*), sušina, refraktometrická sušina, pH, titrační kyselost, redukující cukry, anthokyanová barviva, fenolické látky.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with determination of selected chemical characteristics of juice, pulp and extract prepared from blackberry of two species, from The Czech Republic and Ukraine.

The theoretical part contains the botanical characteristics of blackberry, the content of active substances and possibilities of use of blackberries in the food industry. The following chapters focus on the description of phenolic substances and the determination of pH and titration acidity of fruit juices by manual methods.

In the experimental part, two extraction solvents were first compared for extraction of anthocyanins from blackberry moldings. Furthermore, the selected chemical and physical properties of extracts, juice and pulp from blackberries were determined. The analysis was carried out for blackberries from the Czech Republic and Ukraine.

A 1 : 1 mixture of distilled water and ethanol was a better extraction solvent for the content of anthocyanins. After 14 hours of maceration 150.4 mg of anthocyanins was obtained from 100,0 g of blackberry moldings

Extract from blackberry moldings has been determined to have a much higher concentration of anthocyanins than juice and pulp. The extract of Ukrainian blackberries contained 197.4 mg CGE·dm⁻³ and extract of Czech blackberries 150.4 mg CGE·dm⁻³.

Also phenolic substances had the highest concentration in extracts. Ukrainian blackberries contained 3501.9 mg GAE·dm⁻³ and Czech blackberries contained 3256.1 mg GAE·dm⁻³.

KEYWORDS

Blackberry (*Rubus fruticosus* agg.), total solids, soluble solids, pH, titratable acidity, reducing sugars, total anthocyanins and total phenolics.

PILÁTOVÁ, A. *Stanovení základních chemických charakteristik ostružinové pulpy*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 56 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D., za trpělivé vedení, cenné rady a čas, který mi věnovala při vzniku této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat svým blízkým za podporu, důvěru a pomoc během celého mého studia.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	OSTRUŽINÍK KŘOVITÝ (<i>RUBUS FRUCTICOSUS</i> AGG.)	9
2.1.1	Historie pěstování ostružiníku.....	9
2.1.2	Botanický popis.....	9
2.1.3	Optimální podmínky pro pěstování ostružiníku	12
2.1.4	Vybrané šlechtěné odrůdy ostružiníku	12
2.2	CHEMICKÉ SLOŽENÍ PLODŮ A OBSAH ÚČINNÝCH LÁTEK	13
2.3	VYUŽITÍ OSTRUŽIN V POTRAVINÁŘSTVÍ A LÉKAŘSTVÍ	15
2.4	FENOLICKÉ LÁTKY	16
2.4.1	Fenolické kyseliny.....	16
2.4.2	Flavonoidy.....	16
2.4.3	Tanniny.....	18
2.4.4	Stilbeny.....	18
2.5	PH A TITRAČNÍ KYSELOST OVOCNÝCH ŠŤÁV A JEJICH STANOVENÍ MANUÁLNÍMI METODAMI	18
2.5.1	Stanovení pH	18
2.5.2	Stanovení titrovatelných kyselin vizuální metodou	19
2.5.3	Stanovení titrovatelných kyselin potenciometrickou metodou	19
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	21
3.1	PŘÍPRAVA VZORKŮ K MĚŘENÍ.....	21
3.1.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	21
3.1.2	Původ rostlinného materiálu.....	21
3.1.3	Příprava šťávy	21
3.1.4	Příprava extraktu	21
3.1.5	Příprava pulpy	22
3.2	STANOVENÍ SUŠINY SUŠENÍM	22
3.2.1	Použité pomůcky a přístroje.....	22
3.2.2	Měření	22
3.2.3	Výpočet	22
3.3	REFRAKTOMETRICKÉ STANOVENÍ CUKERNÉ SUŠINY.....	23
3.3.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	23
3.3.2	Měření	23
3.3.3	Výpočet	23
3.4	STANOVENÍ PH A TITRAČNÍ KYSELOSTI	23
3.4.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	23
3.4.2	Příprava vzorků a měření	24
	Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného	24
3.4.3	Výpočet	24

3.5	STANOVENÍ REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ DLE BERTRANDA A GRAVIMETRICKOU METODOU	25
3.5.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	25
3.5.2	Příprava roztoků	25
3.5.3	Příprava vzorků a měření	26
3.5.4	Výpočet	27
3.6	STANOVENÍ CELKOVÝCH ANTHOKYANOVÝCH BARVIV pH-DIFERENCIÁLNÍ METODOU	28
3.6.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	28
3.6.2	Příprava roztoků	29
3.6.3	Příprava vzorků a měření	29
3.6.4	Výpočet	29
3.7	STANOVENÍ CELKOVÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK METODOU DLE FOLIN-CIOCALTEUA	30
3.7.1	Použité pomůcky, přístroje a chemikálie	30
3.7.2	Příprava roztoků	30
3.7.3	Příprava vzorků a měření	31
3.7.4	Výpočet	31
3.8	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT	31
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	32
4.1	EXTRAKCE A STANOVENÍ OBSAHU ANTHOKYANOVÝCH BARVIV VE VÝLISCÍCH.....	32
4.2	STANOVENÍ SUŠINY SUŠENÍM	34
4.3	REFRAKTOMETRICKÉ STANOVENÍ CUKERNÉ SUŠINY	35
4.4	STANOVENÍ pH A TITRAČNÍ KYSELOSTI	36
4.5	STANOVENÍ REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ DLE BERTRANDA A GRAVIMETRICKOU METODOU	38
4.6	STANOVENÍ CELKOVÝCH ANTHOKYANOVÝCH BARVIV pH-DIFERENCIÁLNÍ METODOU	39
4.7	STANOVENÍ CELKOVÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK METODOU DLE FOLIN-CIOCALTEUA	40
5	ZÁVĚR.....	42
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	44
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	47
8	SEZNAM PŘÍLOH	48
9	PŘÍLOHY.....	49

1 ÚVOD

Ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus agg.*) je plazivý až polovzpřímený keř. Jeho plody tvoří souplodí menších i větších peckoviček černé či tmavě fialové barvy a řadí se mezi bobulovité ovoce. Nejen plody, ale i listy jsou studované hlavně díky svým léčivým účinkům. Současné výzkumy potvrzují antioxidační účinky plodů ostružiníku, které souvisejí s jejich chemickým složením.

Mezi antioxidanty obsažené v tomto ovoci patří také anthokyanová barviva. Díky nim mají ostružiny pozitivní zdravotní účinky. Další hojně využívanou vlastností anthokyanových barviv je jejich barvivost, v potravinářském průmyslu jsou vyhledávanou náhradou syntetických barviv. Jako potravinářské aditivum můžeme anthokyanová barviva nalézt pod kódem E163.

Ostružinová šťáva je dnes běžně používanou potravinářskou surovinou. Často je používána jen v malém množství k dobarvování potravin. Po vylisování šťávy z plodů jsou jako vedlejší produkty získávány výlisky. Tyto výlisky obsahují poměrně velké množství anthokyanových barviv, proto je v zájmu jejich producentů proměnit tento odpadní materiál ve využitelný zdroj přírodního barviva.

Náplní této bakalářské práce bylo optimalizovat extrakci ostružinových výlisků a zjistit po jakém čase s použitím jakého rozpouštědla lze dosáhnout nejlepších výtěžků anthokyanových barviv. A dále bylo cílem stanovit vybrané chemické a fyzikální charakteristiky šťávy, pulpy a extraktu připravených z plodů ostružiníku rostoucího v České republice a na Ukrajině.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus* agg.)

V současné době jsou plody i listy ostružiníku studovány kvůli léčivým účinkům. Výzkumy potvrzují antioxidační účinky ostružinových plodů, které souvisejí s jejich chemickým složením.

Říše:	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše:	cévnaté rostliny (<i>Tracheobiota</i>)
Nadoddělení:	semenné rostliny (<i>Spermatophyta</i>)
Oddělení:	krytosemenné rostliny (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída:	nižší dvouděložné rostliny (<i>Magnoliopsida</i>)
Podtřída:	<i>Rosidae</i>
Řád:	růžotvaré (<i>Rosales</i>)
Čeleď:	růžovité (<i>Rosaceae</i>)
Rod:	ostružiník (<i>Rubus</i> agg.)
Druh:	ostružiník křovitý (<i>Rubus fruticosus</i> agg.) [1]

Naše známé ostružiníky lze rozdělit dle vzrůstu na odrůdy vzpřímené (ty pocházejí z druhů *Rubus argutus* Link, *Rubus frondosus* B. a *Rubus laciniatus* Wild) a odrůdy poléhavé (pocházející z druhů *Rubus flagellaris* Willd, *Rubus trivialis* P. J. Müll a *Rubus procerus* P. J. Müll) [2].

2.1.1 Historie pěstování ostružiníku

Ostružiník je nejmladší pěstovanou ovocnou rostlinou. Jako kulturní rostlina se ostružiník pěstoval až v 19. století. První zmínky pochází z Ameriky z roku 1840, a to o odrůdě Dorchester. Roku 1851 byly vyšlechtěny odrůdy Wilsonova, Kittatiny a jiné, následně byly tyto odrůdy rozšířeny i do Evropy. Odrůdy pěstované u nás vznikly z několika botanických druhů rodu *Rubus* agg.

V dnešní době se ostružiník ve větším měřítku pěstuje zejména v USA, u nás se kvůli nedostatku vhodných mrazuvzdorných odrůd pěstuje málo [2], [3].

2.1.2 Botanický popis

Ostružiník je plazivý až polovzpřímený keř. Roste rychle do výšky až 5 m.

Kořen

Kořeny jsou dlouhé a silné, rostou do velké hloubky (150–250 cm), zásobují rostlinu spodní vláhou a keř se jimi dobře upevňuje. Jemné vlasové kořínky zásobují keř živinami.

Výhony

Z kořenového stonku každoročně vyrůstají nové pruty. Nadzemní část tak tvoří jednoleté a dvouleté (zřídka i tříleté) výhony dosahující délky 2 až 5 m. Nekvetoucí výhony jsou nejprve vzpřímené, časem se stávají obloukovitě poléhavými a později se rozvětvují. Pruty jsou zčásti dřevnaté a průřez prutem má tvar pětiúhelníku. Pruty mají nazelenalé až purpurové zbarvení, které je nejintenzivnější v zimě. V době olistění je na místech, kam dopadají sluneční paprsky, možné pozorovat červené zbarvení. Plodné pupeny jsou rozmístěny po celé délce prutu, nejvíce jich je na vrcholu prutu. Na 1 m prutu zpravidla bývá 14–20 pupenů.

List

Listy mohou být třílaločné, pětílaločné i sedmilaločné. Čepele jsou tmavě zelené, na povrchu hladké a po kraji vroubkované. Ze spodní stany mohou mít listy bílou nebo světle zelenou barvu. Řapíky listů bývají zbarveny různě a často jsou porostlé jemnými i silnými ostrými ostny.



Obrázek 1: List ostružiníku [4]

Květ

Ostružiník kvete od května do srpna. Květy mají miskovitý nebo plochý tvar a jsou velké 2,5–5 cm (větší než u maliníku). Zpravidla mívají 5 nebo 7 korunních plátků bílé až narůžovělé barvy a vyskytují se v květenstvích o 5–60 květech, které rozkvétají postupně. Tato květenství vyrůstají na bočních výhoncích dvouletých výhonů. Květy jsou samosprašné a mají mnoho tyčinek.



Obrázek 2: Květ ostružiníku [5]

Plody

Plody tvoří souplodí menších i větších peckoviček. Barva se mění v průběhu zrání ze zelené, přes červenou až na černou či tmavě fialovou. Stopka bývá hustě porostlá jemnými ostny. Na rozdíl od maliníku drží plody ostružiníku pevně na květním lůžku, tudíž se s ním i sklízí. Lůžka bývají dlouhá, špičatá nebo krátká, kuželovitá. Velikost a tvar lůžka mají vliv na vzhled plodu. Dužina je šťavnatá, kyselá nebo sladkokyselá a může mít slabší i silnější aroma. Plné chuti dosahují plody až po úplném dozrání. Dozrávají postupně od poloviny července až do zámrazu.

Semena jsou 2–3 mm velké pečky kulatého nebo ledvinovitého tvaru, na povrchu jsou hladké nebo mírně zvrásněné a mají světle žlutou až tmavě hnědou barvu [2], [3], [6], [7].



Obrázek 3: Plod ostružiníku [8]

2.1.3 Optimální podmínky pro pěstování ostružiníku

Pro pěstování ostružiníku jsou vhodnější půdy lehčí, propustné a slabě kyselé (ideální rozmezí pH se pohybuje mezi 5,5 a 6,5). Vyšší hodnota pH má negativní vliv na rozpustnost většiny mikroelementů a rostlina tak trpí jejich nedostatkem. Půda by měla obsahovat přiměřené množství živin, vysoký obsah organických látek a nízký obsah uhličitánů (pod 2 %). Ostružiník má obzvlášť vysoký nárok na dusík a draslík, tyto prvky ovlivňují celkový růst a vyzrálост pletiv a tím umožňují rostlině přezimovat [9].

2.1.4 Vybrané šlechtěné odrůdy ostružiníku

Jednotlivé druhy ostružiníku zatím nejsou dokonale popsány, často jsou od sebe jen těžko rozeznatelné a navíc mezi odrůdami dochází k mezidruhovému křížení. Proto jsou všechny u nás pěstované odrůdy označovány jako ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus agg.*).

Wilsonův raný

Tato odrůda je původem z USA. Vyžaduje hlubší, humózní půdy, které jsou mírně kyselé až neutrální, a dostatek srážek (okolo 600 mm). Keř je hustý a roste vzpřímeně až do výšky 1,7 m, odnože tvoří po celé délce matečné rostliny. Celá rostlina je pokryta malými trny. Plody jsou středně velké, tvar mají tupě kuželovitý až oválný a barvu lesklou černou až černofialovou. Na chuť jsou plody sladší a velmi aromatické. Plody po dozrání neopadávají. Zraje postupně ve 2. až 4. týdnu července. Tato odrůda je středně odolná proti napadení šedou plísní na plodech a vysoce odolná proti předčasnému odumírání výhonů a mrazu ve dřevě.

Zeva II

Tato odrůda je původem ze Švýcarska. Jedná se o křížence odrůd Rote Wadenswiler a Villamette. Vyžaduje středně propustné, písčité půdy v teplejších oblastech, které jsou dostatečně zásobeny vláhou a humusem. Keř je středně vzrůstný, výhony jsou vyšší a odnožuje středně silně. Plody jsou velké, tvar mají široce tupě kuželovitý až kulovitý a barvu sytě červenou. Na chuť jsou plody sladce navinulé a aromatické. Zraje od konce června do 3. týdne července. Tato odrůda je vysoce odolná proti napadení šedou plísní na plodech a mírně odolná proti předčasnému odumírání výhonů. Je náročnější na pěstování.

Thornfree

Tato odrůda je původem z USA. Vyžaduje hlubší, humózní půdy, teplejší podnebí a dostatek srážek (nad 600 mm). Keř je silně vzrůstný, středně hustý, výhony jsou tlusté a velmi dlouhé (až 4 m), poléhavé a bez trnů. Odnožuje málo a jen v blízkosti matečné rostliny. Plody jsou velké, tvarově nevyrovnané, kuželovité a barvu mají lesklou červenofialovou. Na chuť jsou plody sladkokyselé a aromatické. Plody po dozrání neopadávají. Zraje v druhé polovině srpna a sklizňové období trvá asi 25 dnů. Tato odrůda je málo odolná proti napadení šedou plísní na plodech a mrazu ve dřevě a vysoce odolná proti předčasnému odumírání výhonů [10].

2.2 Chemické složení plodů a obsah účinných látek

Ostružiny mají vysoký obsah biologicky vázané vody, a to 70–80 %. Největší spotřeba živin u ostružiníku je na tvorbu listů a na růst výhonů, proto listy obsahují více živin než plody.

Tabulka 1: Energetická hodnota vybraného ovoce [11]

Ovoce	Energetická hodnota [kcal·100 g ⁻¹ jedlého podílu]	Energetická hodnota [kJ·100 g ⁻¹ jedlého podílu]
Ostružiny	54	225
Maliny	50	209
Černý rybíz	62	258
Borůvky	51	213
Jablko	52	219

V porovnání s ostatními potravinami je celková kalorická hodnota ovoce nízká. Ze sacharidů obsahují ostružiny hlavně monosacharidy glukosu a fruktosu. Malé tmavé ovoce zpravidla obsahuje jen nepatrné množství disacharidů, u ostružin je to 0,1 g sacharosy a 0,1 g maltosy na 100 g jedlého podílu.

Tabulka 2: Obsah sacharidů ve vybraných druzích ovoce [11]

Ovoce	Obsah sacharidů [g·100 g ⁻¹ jedlého podílu]		
	Glukosa	Fruktosa	Sacharosa
Ostružiny	2,3	2,4	0,1
Maliny	2,3	2,4	0,6
Černý rybíz	3,2	4,0	0,3
Borůvky	2,6	3,6	0,2
Jablko	2,6	5,8	2,5

Dále ovoce obsahuje polysacharidy, a to škrob, celulosu a pektin. Škrob je obsažen v ovoci jen zpočátku, v procesu dozrávání hydrolyzuje na sacharosu, glukosu a fruktosu. I pektinové látky jsou nejvíce zastoupeny v nezralém ovoci, společně s celulosou přispívají k atraktivnímu tvaru, barvě a vůni ovoce.

Třísloviny (tanniny) jsou obsaženy převážně v nezralém ovoci, a způsobují jeho natrpklou až svíravou chuť. Při plné zralosti jejich obsah klesá pod 0,1 %. Aromatické látky dávají plodům vůni, v ovoci jsou zastoupeny převážně estery kyselin, aldehydy a silice. Patří sem i ethen, který urychluje dozrávání plodů. V pečičkách je obsaženo 22 % éterického oleje.

Obsah bílkovin a tuků v ostružinách je poměrně malý, množství tuků je 1,0 g a bílkovin 1,4 g na 100 g jedlého podílu.

Drobné ovoce je zpravidla dobrým zdrojem vlákniny. Tu tvoří jedlý podíl rostliny, který je v lidském organismu rezistentní vůči trávení a vstřebávání v tenkém střevě. Ostružiny obsahují 5,6 % vlákniny [12], [13].

Tabulka 3: Obsah vitamínů v ostružinách [11]

Vitamín	Obsah ve 100 g jedlého podílu
B1 (thiamin)	0,03 mg
B2 (riboflavin)	0,04 mg
C	17,9 mg
A	9 RE*
β-karoten (provitamin A)	$110 \cdot 10^{-3}$ mg
E	5,50 ATE**
α-tokoferol (provitamin E)	5,50 mg

*1 RE (ekvivalent retinolu) udává aktivitu odpovídající 1 µg retinolu, ** 1 ATE (ekvivalent alfa-tokoferolu) udává aktivitu odpovídající 1 mg alfa-tokoferolu

Ostružiny jsou, stejně jako ostatní drobné ovoce, dobrým zdrojem vitamínu C.

Tabulka 4: Obsah minerálních látek v ostružinách [11]

Minerální látka	Obsah [mg·100 g ⁻¹ jedlého podílu]
Na	4
Mg	28
P	32
K	179
Ca	44
Fe	0,9
Cu	0,165
Zn	0,53
Mn	0,646
Se	$0,4 \cdot 10^{-3}$

Ovoce je dobrým zdrojem minerálních látek, protože jsou tyto látky obsaženy ve formách přístupných pro lidský organismus. Kyselost ovoce způsobují organické kyseliny, v ostružinách se vyskytuje kyselina jablečná, vinná a citronová [12].

Významnými složkami drobného ovoce jsou fenolické látky. Jejich množství v ovoci se pohybuje v řádu tisíců mg na kg sušiny. V jednotlivém ovoci se však množství fenolických látek velmi liší, je závislé jednak na odrůdě, stupni zralosti a dalších faktorech, ale i na analytickém postupu použitém při extrakci ovoce a kvantifikaci těchto látek. V ostružinách bylo identifikováno 14 fenolických kyselin, v největším zastoupení byly m-kumarová, p-kumarová a 3,4-dimethylskořicová. Z volných fenolických kyselin dominují v ostružinách kyselina kávová a ferulová [14], [15].

Obsah všech složek se může mírně lišit, je závislý na odrůdě, zeměpisné poloze, klimatických činitelích, půdních a agrotechnických podmínkách, stupni zralosti, velikosti plodů, roční a denní době sklizně, skladovacích podmínkách aj. [12].

2.3 Využití ostružin v potravinářství a lékařství

Pro potravinářské účely se sbírají ostružiny vypěstované v sadech i volně rostoucí v přírodě. Ostružiny jsou bohaté na cukry, organické kyseliny i barviva. Plody se využívají k výrobě koncentrátů, šťáv, sirupů, nektarů, vín, kompotů, marmelád, džemů, likérů a brandy. Ostružinová šťáva je dobrým povzbuzujícím nápojem, protože její vysoký obsah sacharidů dodává tělu energii. Lyofilizované ostružiny se používají do müsli, müsli tyčinek, čokolád, ke zdobení zákusků, ale konzumují se i samostatně. Ostružiny se často kombinují s jiným ovocem, výrobkům dodávají sytou barvu a výrazné aroma [7]. Velmi ceněnou složkou jsou anthokyanová barviva. Ta se jako potravinářská aditiva označují kódem E163. Toto aditivum se používá k dobarvování kyselých potravin, např. vína, brusinkového džusu, nápojů s obsahem oxidu uhličitého, cukrovinek, jogurtů, mléčných výrobků, zmrzlin, müsli tyčinek, aj. [16]. Dále jsou ostružiny dobrým zdrojem antioxidantů, proto mají antimikrobiální účinky.

Plody jsou oblíbené i ve stolní variantě. Čerstvé plody jsou dobrým zdrojem vitamínu C, jejich sušením však obsah vitamínu ubývá [17].



Obrázek 4: Nektar, šťáva a sirup z ostružin [18]

Plody ostružiníku mají význam nejen v potravinářství, ale i v lékařství. Studované jsou jejich protirakovinové účinky. Dále posilují imunitu, pomáhají léčit anémii, bolest v krku, vředy a záněty dásní. Jsou využívány i ke zlepšení chuti a barvy některých léků. Nejen plody ostružiníku jsou hojně využívány i v lékařství. Například odvar z kořene se používá k léčbě úplavice, průjmů, černého kašle, chudokrevnosti, aftů nebo ke zmírnění porodních bolestí. Žvýkání listů pomáhá zmírnit bolest zubů a extrakt z listů má hypoglykemický účinek, proto by mohl přispět k léčbě diabetu II. typu [19].

2.4 Fenolické látky

Fenolické látky jsou sekundární metabolity rostlin. Pro rostliny mají ochrannou funkci, chrání je proti UV záření, virům, bakteriím a hmyzu. Jsou syntetizovány z aminokyselin fenylalaninu nebo tyrosinu. Tyto látky jsou obsaženy v potravinách rostlinného původu a jsou známé a studované hlavně pro své antioxidační účinky. Jejich strukturu tvoří jedno nebo více aromatických jader, na nichž je navázána alespoň jedna hydroxylová skupina a několik methylových a glykosylových skupin. Počet těchto skupin má vliv na barvu, hořkost a svíravost ovoce. Fenolické látky můžeme rozdělit na fenolické kyseliny, flavonoidy, tanniny a stilbeny [20], [21].

2.4.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou velmi studovanou skupinou chemických látek. Rozdělují se na deriváty kyseliny skořicové a kyseliny benzoové. Deriváty kyseliny skořicové bývají většinou esterifikovány a deriváty kyseliny benzoové glykosylovány. V drobném tmavém ovoci volné fenolické kyseliny obvykle nepřekračují obsah 5 %. V drobném ovoci se nejčastěji vyskytují u derivátů kyseliny skořicové: kyselina ferulová, p-kumarová, kávová a chlorogenová, a u derivátů kyseliny benzoové: kyselina salicylová, p-hydroxybenzoová, ellagová a gallová [21].

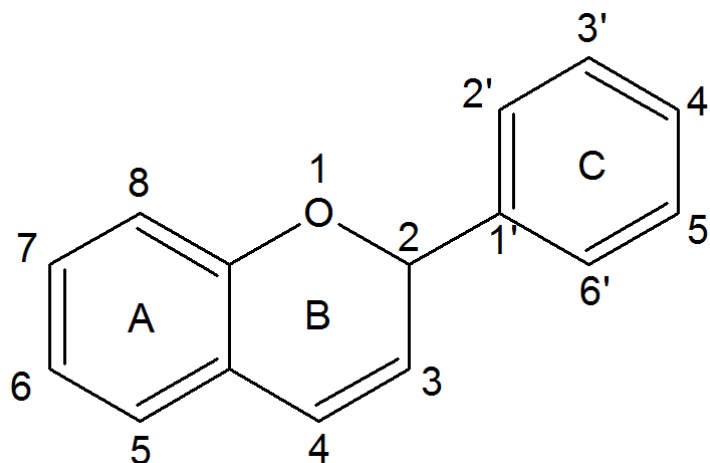
2.4.2 Flavonoidy

Flavonoidy představují nejrozmanitější skupinu fenolických látek. Jejich strukturu tvoří flavan, který obsahuje dva aromatické kruhy (A, C) propojené heterocyklem (B) tvořeným třemi uhlíky. Na základě počtu hydroxylových skupin navázaných na centrálním kruhu lze flavonoidy dále rozdělit na katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly a anthokyanidiny [14], [22].

Je známo více než 4000 flavonoidních látek, jen některé jsou však důležité jako přírodní rostlinná barviva, jiné jsou významné pro svoji chuť (jedná se o trpké a hořké látky nebo jejich prekurzory) nebo mají významné biologické účinky.

Katechiny a leukoanthokyanidiny jsou bezbarvé sloučeniny, reakcí enzymového hnědnutí z nich však vznikají hnědé pigmenty. Využívají se jako potravinářská barviva. Při zpracování ovoce a zeleniny z nich mohou vznikat barevné anthokyanidiny. Oligomery těchto sloučenin s trpkou chutí se řadí mezi kondenzované třísloviny, neboli tanniny.

Chalkony a dihydrochalkony jsou žluté sloučeniny, aurony zlatožluté. Nejvýznamnější z flavonoidních barviv jsou flavony a flavonoly, které jsou bezbarvé nebo nažloutlé, a anthokyaniny, které jsou převážně červené, ale mohou se vyskytovat i v odstínech žluté, oranžové, fialové a modré [23].



Základní struktura flavonoidů – flavan

2.4.2.1 Anthokyanidiny

Základní struktura anthokyanidinů je tvořena flavyliovým (2-fenylbenzopyryliovým) kationtem. V potravinářské chemii má význam 6 anthokyanidinů, které mají hydroxylovou skupinu v poloze C-3. Jsou to kyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin a malvidin [24]. Zbarvení jednotlivých anthokyanidinů je závislé na počtu hydroxylových skupin navázaných na aromatickém kruhu C. Anthokyanidiny s malým množstvím OH skupin bývají zpravidla oranžové, u anthokyanidinů s vyšším počtem OH skupin přechází jejich zbarvení až do fialové [25].

2.4.2.2 Anthokyanová barviva

Anthokyanová barviva neboli anthokyaniny jsou O-glykosidy anthokyanidinů. Vyskytují se ve formě mono-, di- nebo triglykosidů, navázaný cukr je obvykle substituovaný na uhlíku C-3, méně často na uhlících C-5 nebo C-7. Jsou to ve vodě rozpustné červené, nachové, purpurové a modré pigmenty. V ovoci se nachází hlavně ve vakuolách rostlinných buněk ve formě různě velkých granulí, v buněčných stěnách a ostatních organelách se téměř nevyskytují [24]. V rostlinách mají mnoho funkcí, pomáhají přilákat opylovače a roznašeče semen a podílejí se na obranných mechanismech proti biotickým a stresovým faktorům [25]. V ostružinách byl jako majoritní pigment stanoven kyanidin-3-glukosid [26].

2.4.3 Tanniny

Tanniny neboli třísloviny se řadí mezi antinutriční látky. Jejich nadbytek může být nežádoucí, protože inhibuje biologickou dostupnost železa. Interakce mezi tanniny a proteiny může vést k trpké chuti ovoce a vznik tohoto komplexu v trávicím traktu může inhibovat i biologickou dostupnost proteinů. Dělíme je na tanniny hydrolyzovatelné a kondenzované (nehydrolyzovatelné). Jako hydrolyzovatelné tanniny nazýváme estery kyseliny gallové a ellagové s glukosou a produkty jejich oxidačních reakcí. Kondenzované tanniny jsou polymery dvou nebo více molekul flavan-3-olu. Obě formy taninů se vyskytují v bobulovitém ovoci v různém množství [15], [24].

2.4.4 Stilbeny

Stilbeny patří do fenolických látek a svou strukturou jsou podobné flavonoidům. Molekulu přirozeně se vyskytujícího stilbenu tvoří dva benzenové kruhy spojené alifatickým dvouuhlíkatým řetězcem se strukturou $C_6-C_2-C_6$. Mohou se vyskytovat jako volné sloučeniny nebo jako glykosidy. Jako přirozená barviva rostlin nemají moc velký význam, vykazují však významné biologické vlastnosti [23].

2.5 pH a titrační kyselost ovocných šťáv a jejich stanovení manuálními metodami

Kyselost ovocných šťáv je způsobena obsahem organických kyselin. Ty mají v potravinách nemalý význam; ovlivňují jednak senzorické vlastnosti, ale mají vliv i na technologické postupy při zpracování potravinářských surovin. V potravinách se vyskytují slabé až středně silné, jedno- i vícesytné alifatické, zřídka i aromatické kyseliny. Mohou se vyskytovat ve formě volných kyselin, dále ve formě solí, hydrogensolí nebo mohou být vázané s jinými organickými sloučeninami.

Při analýze potravin je často sledovaným kvalitativním znakem celková kyselost neboli celkový obsah kyselin. Bývá vyjadřována jako obsah kyseliny, která ve vzorku převládá. U vína se uvádí jako koncentrace kyseliny vinné, u dalších vzorků jako koncentrace kyseliny jablečné, citronové, aj.

Kyselost se stanovuje titračně s různým způsobem zjištění bodu ekvivalence. Jednotlivé organické kyseliny se stanovují chemickými nebo chromatografickými metodami [27].

2.5.1 Stanovení pH

Hodnota pH neboli záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů se u potravin určuje z důvodu stanovení tzv. aktivní kyselosti. Ta má velký význam při posuzování senzorické kyselosti, dále při výběru způsobu uchování potravin a jejich údržnosti při technologických procesech. Nejpresnější měření pH je potenciometrickou metodou, měří se při ní elektromotorické napětí článku referenční (porovnávací) a indikační elektrody. V potravinářské praxi se nejčastěji používá referenční kalomelová elektroda, její elektromotorické napětí (EMN) při 25°C je +0,242 V. Jako indikační elektrody se používají skleněná, antimonová nebo chinhydronová elektroda. Při měření pH se využívá metoda

kalibračního grafu nebo kalibrace pH metru pomocí kalibračních pufrů, jejichž pH je blízké hodnotě pH měřeného vzorku. Kapalně vzorky je možné analyzovat přímo, z tuhých vzorků je třeba vytvořit extrakt. Ovšem existuje i možnost přímého vpichu speciální elektrody do vzorků (masa, sýru, ovocných plodů aj.). Měření pomocí pH papírků se provádí pouze jako orientační [27].

2.5.2 Stanovení titrovatelných kyselin vizuální metodou

Kapalný vzorek nebo vodný extrakt tuhého vzorku se titruje roztokem NaOH na vhodný acidobazický indikátor. Vzhledem k tomu, že se titrují slabé kyseliny silným hydroxidem, používá se indikátor s intervalem barevné změny v alkalické oblasti pH (8–10). Vhodným indikátorem je například fenolftalein s barevnou změnou při 8,2–10 pH.

Ze spotřeby NaOH se vypočítá množství titrovatelných kyselin. V případě, že vzorek obsahuje CO₂, zahřeje se na 80°C, aby CO₂ unikl. Titrační kyselost v procentech se vypočítá ze vztahu (Rov. 1):

$$w_k = \frac{V_a \cdot r \cdot K \cdot b}{m} \cdot 10 \quad 1$$

kde:

V_a ... spotřeba NaOH [ml]

r ... stupeň ředění

K ... korekční součinitel odměrného roztoku NaOH (Ve vzorcích, které obsahují kyselinu mravenčí, benzoovou nebo siřičitou se při přesném stanovení koriguje obsah titrovatelných kyselin o hodnotu odpovídající spotřebě NaOH na tyto kyseliny.)

b ... přepočítávací faktor na kyselinu, která ve vzorku převládá (pro kyselinu citronovou $b = 0,064$, pro kyselinu jablečnou $b = 0,067$, pro kyselinu vinnou $b = 0,075$)

m ... navážka analyzovaného vzorku [g]

Tato metoda není příliš přesná a je vhodná pouze pro čiré a světlé vzorky. Tmavé vzorky je třeba velmi zředit nebo použít luminiscenční indikátory či lakmusové papírky. Vzorky obsahující anthokyanová barviva je výhodnější titrovat potenciometricky [27], [28].

2.5.3 Stanovení titrovatelných kyselin potenciometrickou metodou

Na potenciometrickou titraci se používá dvojice elektrod: referenční (nejčastěji nasycená kalomelová elektroda) a indikační, která musí být citlivá na změnu koncentrace vodíkových iontů (např. skleněná, antimonová, chinhydronová nebo vodíková elektroda). Vzorek v kádince se umístí na elektromagnetickou míchačku, do kádinky se vloží magnetické míchadlo a do roztoku se ponoří elektrody. Za stálého míchání se vzorek titruje roztokem NaOH. Hodnota spotřeby titračního roztoku a naměřeného elektromotorického napětí se po každém ustálení rovnováhy zaznamená a vynese do grafu. Získá se typická S křivka, ze které se pomocí Grannových diagramů zjistí inflexní bod odpovídající spotřebě titračního činidla v bodě ekvivalence [27], [28].

Další možností stanovení titrovatelných kyselin potenciometrickou titrací je využití pH metru. Ten většinou obsahuje kombinovanou elektrodu, tzn. referenční a indikační elektrody zabudované do jedné trubičky. Moderní digitální pH metry většinou převádějí měřené napětí mezi elektrodami přímo na hodnotu pH, kterou zobrazují na displeji. Změna hodnoty pH o jeden stupeň odpovídá změně potenciálu o 59 mV. Stanovení probíhá stejně jako v předchozím případě s tím rozdílem, že se titruje až do neutrální reakce, tzn. do pH 7. Titrační kyselost v procentech se vypočítá stejně, jako tomu bylo u stanovení titrovatelných kyselin vizuální metodou. Potenciometrická metoda je vhodná i pro stanovení barevných a kalných vzorků [27], [28], [29].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Příprava vzorků k měření

3.1.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- běžné laboratorní sklo
- ruční vinařský lis
- plachetka
- alobal
- mikrozkuhavky
- filtrační papír
- vodní vývěva
- ruční mlýnek

- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)

- ethanol (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)

3.1.2 Původ rostlinného materiálu

Pro základní chemickou analýzu byly použity plody dvou druhů ostružiníku křovitého (*Rubus fruticosus* agg.). První analyzované plody pocházely z České republiky, přesněji z Klobouk u Brna a byly sklizeny v sadu na podzim 2016. Druhé analyzované plody pocházely z Ukrajiny a byly sklizeny ve volné přírodě. Oboje plody byly v plastových krabičkách zamrazeny při teplotě -18°C a převezeny na Fakultu chemickou VUT v Brně.

3.1.3 Příprava šťávy

Pro vylisování šťávy z ostružin byl použit ruční vinařský lis s plachetkou. Plody byly po vyjmutí z mrazničky vloženy do lisu, kde volně rozmrzaly při laboratorní teplotě. Poté byla z plodů vylisována šťáva. Ta byla v PET lahvích zamrazena. Získané výlisky byly rovněž zamrazeny a uschovány pro následnou přípravu extraktu.

3.1.4 Příprava extraktu

Výlisky získané lisováním šťávy byly volně rozmrazeny. Na analytických vahách bylo odváženo 25 g výlisků a byla zaznamenána jejich hmotnost s přesností na 0,1 mg. Výlisky byly kvantitativně přeneseny do Erlenmeyerovy baňky a zality 100 ml rozpouštědla, poté byla Erlenmeyerova baňka přetažena alobalem a ponechána stát na tmavém místě při laboratorní teplotě.

U ostružin pocházejících z České republiky proběhla extrakce ve dvou různých rozpouštědlech, destilované vodě a směsi ethanolu a destilované vody v poměru 1 : 1 s cílem zjistit lepší extrakční činidlo a optimální dobu extrakce. Po zalití výlisků rozpouštědlem byl obsah baňky promíchán. Každou hodinu byl pipetou odebrán 1 ml extraktu. Tento vzorek byl přenesen do mikrozkuhavky a zamražen. Do Erlenmeyerovy baňky s extraktem byl doplněn

1 ml rozpouštědla a obsah baňky byl promíchán. Po 14. hodině byla extrakce ukončena. V odebraných vzorcích byl posléze stanoven obsah anthokyanových barviv.

Oba druhy ostružin byly extrahovány ještě jednou. Tentokrát nebyly po hodině odebírány dílčí vzorky, ale po ukončení extrakce ve 14. hodině byl celý obsah Erlenmeyerovy baňky zfiltrován a filtrát byl zamražen v plastové krabici. Filtrát byl použit ke stanovení vybraných chemických charakteristik.

3.1.5 Příprava pulpy

Plody byly po vyndání z mrazáku volně rozmrazeny a zbaveny kousků ledu. Poté byly pomlety na ručním mlýnku. Pomleté ostružiny byly smíchány s destilovanou vodou v poměru 2 : 3 a směs byla zfiltrována přes Büchnerovu nálevku. Zředěná pulpa byla zamrazena v plastové krabici a byly v ní také stanoveny vybrané chemické charakteristiky.

3.2 Stanovení sušiny sušením

3.2.1 Použité pomůcky a přístroje

- běžné laboratorní sklo
- exikátor se silikagelem
- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- horkovzdušná sušárna (Memmert, Německo)

3.2.2 Měření

Několik plodů bylo po vyndání z mrazáku volně rozmrazeno. Prázdna a suchá Petriho miska byla zvážena s přesností na 0,1 mg, následně na ni bylo položeno asi deset kusů ostružin, miska byla opět zvážena s přesností na 0,1 mg. Petriho miska s ostružinami byla vložena do sušárny vyhřáté na 45°C. Po dvou dnech byla teplota zvýšena na 60°C a další den na 105°C. Sušení probíhalo do konstantní hmotnosti. Poté byla Petriho miska se vzorkem přendána do exikátoru. Po vychladnutí byla Petriho miska opět zvážena s přesností na 0,1 mg. Sušina byla stanovena pro každý druh ostružin třikrát.

3.2.3 Výpočet

Obsah sušiny v % se vypočítá dle vzorce (Rov. 2):

$$w_s = 100 - w_v \quad 2$$

kde:

$$w_v = \frac{(m_1 - m_0) - (m_2 - m_0)}{m_1 - m_0} \quad 3$$

w_s ... obsah sušiny v %

w_v ... obsah vlhkosti v %

m_0 ... hmotnost Petriho misky

m_1 ... hmotnost Petriho misky se vzorkem před sušením

m_2 ... hmotnost Petriho misky se vzorkem po sušení

3.3 Refraktometrické stanovení cukerné sušiny

3.3.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- Pasteurova pipeta 3 ml
- buničitá vata
- Abbeho refraktometr (Carl Zeiss JENA, Německo)
- ethanol (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)

3.3.2 Měření

Před měřením byly plochy hranolů důkladně očištěny destilovanou vodou a ethanolem a osušeny buničitou vatou. Na spodní hranol byla Pasteurovou pipetou nanесena destilovaná voda a rozetřena po celé ploše hranolu. Horní hranol byl přiklopen na spodní a zabezpečen klíčem. Sklon hranolů byl nastaven tak, aby rozhraní světla a stínu bylo v průsečíku kříže. Byla odečtena nulová poloha. Hranoly byly znovu odklopeny a osušeny. Na spodní hranol byl nanесen vzorek, ten byl rozetřen po celé ploše hranolu. Horní hranol byl přiklopen na spodní a zabezpečen klíčem. Sklon hranolů byl nastaven tak, aby rozhraní světla a stínu bylo v průsečíku kříže. Po ustálení teploty (asi po 1 minutě) byl odečten index lomu na čtyři desetinná místa. Měření proběhlo vždy třikrát pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

3.3.3 Výpočet

Ze tří hodnot indexu lomu jednoho vzorku byl vypočítán aritmetický průměr. K výslednému indexu lomu bylo vyhledáno v příslušné tabulce odpovídající množství sušiny v hmotnostních procentech sacharosy.

3.4 Stanovení pH a titrační kyselosti

3.4.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- běžné laboratorní sklo
- magnetické míchadlo
- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)
- magnetická míchačka Color Squid (IKA-Werke, Německo)
- pH metr Lab pH 50 (XC Instruments, Itálie)
- dihydrát kyseliny šťavelové (Lachema, Česká republika)
- fenolftalein (Penta, Česká republika)
- roztok hydroxidu sodného (Lachema, Česká republika)

3.4.2 Příprava vzorků a měření

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného

Nejprve byla vypočtena hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci $0,25 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vypočtené množství bylo odváženo na analytických vahách s přesností na 0,1 mg a kvantitativně převedeno do odměrné baňky na 100 ml. Baňka byla doplněna destilovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku bylo pipetováno do titrační baňky přesně 10 ml, byly přidány tři kapky roztoku fenolftaleinu a roztok byl titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého růžového zbarvení. Titrace byla provedena třikrát.

Měření

Vzorky ostružinové šťávy, extraktu a pulpy byly rozmrazeny a promíchány. Do kádinky bylo napipetováno 25,0 ml vzorku. Kádinka byla umístěna na magnetickou míchačku, do kádinky bylo vloženo magnetické míchadlo a do vzorku byla ponořena pH-elektroda. Po ustálení teploty byla zaznamenána hodnota pH. Následně byl vzorek titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného až do hodnoty pH 7,0. Měření proběhlo vždy třikrát pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

3.4.3 Výpočet

Z průměrné spotřeby odměrného roztoku NaOH při standardizaci byla vypočítaná přesná koncentrace tohoto roztoku dle vzorce (Rov. 4):

$$c_{NaOH} = \frac{2 \cdot m_{\text{šť}}}{M_{\text{šť}} \cdot V_{NaOH} \cdot F_{ZŘ}} \quad 4$$

kde:

c_{NaOH} ... přesná koncentrace roztoku hydroxidu sodného v $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

$m_{\text{šť}}$... navážka dihydrátu kyseliny šťavelové v g

$M_{\text{šť}}$... molekulová hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové ($126,07 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$)

V_{NaOH} ... průměrná spotřeba roztoku hydroxidu sodného v dm^3

$F_{ZŘ}$... faktor zředění $\left(\frac{100}{10}\right)$

Titrační kyselost vzorku byla vypočítaná ze vzorce (Rov. 5):

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot c_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{V_0} \quad 5$$

kde:

c_{H^+} ... veškerý obsah titrovatelných kyselin v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

c_{NaOH} ... přesná koncentrace roztoku hydroxidu sodného v $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

V_{NaOH} ... průměrná spotřeba roztoku hydroxidu sodného v dm^3

V_0 ... objem vzorku (25 dm^3)

Obsah titrovaných kyselin byl vyjádřen jako obsah převládající kyseliny, kterou je v ostružinách kyselina jablečná, dle vzorce (Rov. 6):

$$c_{jab} = c_{H^+} \cdot f_{jab} \quad 6$$

kde:

c_{jab} ... koncentrace kyseliny jablečné v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

c_{H^+} ... veškerý obsah titrovatelných kyselin v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

f_{jab} ... faktor pro kyselinu jablečnou (0,067)

3.5 Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda a gravimetrickou metodou

3.5.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- běžné laboratorní sklo
- filtrační kelímek S4
- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)
- vařič (ETA, Česká republika)
- horkovzdušná sušárna (Memmert, Německo)
- dihydrát kyseliny šťavelové (Lachema, Česká republika)
- kyselina sírová p.a. 96% (Penta, Česká republika)
- manganistan draselný (Mach chemikálie s.r.o., Česká republika)
- pentahydrát síranu měďnatého (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)
- vínan draselno-sodný (Penta, Česká republika)
- hydroxid sodný (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)
- síran železitý (Penta, Česká republika)
- ethanol (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)

3.5.2 Příprava roztoků

Roztok kyseliny sírové o koncentraci $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Bylo odměřeno 222 ml 96% kyseliny sírové. Odměrná baňka na 1000 ml byla asi z poloviny naplněna destilovanou vodou. Za stálého míchání a chlazení do ní bylo kvantitativně přeneseno odměřené množství kyseliny sírové. Baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou, roztok byl promíchán.

Roztok manganistanu draselného o koncentraci $0,02 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Bylo naváženo 3,3 g KMnO_4 a navážka byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do odměrné baňky na 1000 ml. Baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou a roztok byl promíchán.

Fehlingův roztok I

Bylo naváženo 69,3 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a navážka byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do odměrné baňky na 1000 ml. Baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou a roztok byl promíchán.

Fehlingův roztok II

Bylo naváženo 346 g vlnanu draselno-sodného a 150 g NaOH, obě navážky byly kvantitativně převedeny destilovanou vodou do odměrné baňky na 1000 ml. Baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou a roztok byl promíchán.

Roztok síranu železitého

Bylo naváženo 50 g $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, navážka byla rozpuštěna v 500 ml destilované vody. Roztok byl kvantitativně převeden do odměrné baňky na 1000 ml. Za stálého míchání a chlazení bylo do baňky přidáno 109 ml koncentrované kyseliny sírové. Baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou a roztok byl promíchán.

3.5.3 Příprava vzorků a měření

Standardizace odměrného roztoku manganistanu draselného

Nejprve byla vypočtena hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vypočtené množství bylo odváženo na analytických vahách s přesností na 0,1 mg a kvantitativně převedeno do odměrné baňky na 100 ml. Baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku bylo pipetováno do titrační baňky přesně 10 ml, pro okyselení bylo přidáno 5 ml roztoku kyseliny sírové. Z byřety byl přidán asi 1 ml odměrného roztoku manganistanu draselného. Titrační baňka byla zahřáta asi na 60°C a po odbarvení roztoku pokračovala titrace až do prvního slabě růžového zbarvení, které bylo stále nejméně 30 sekund. Titrace byla provedena třikrát.

Příprava vzorku

Vzorky ostružinové šťávy, pulpy a extraktu byly rozmrazeny a promíchány. 2 ml vzorku byly zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg, poté byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky na 100 ml a doplněny po rysku destilovanou vodou.

Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda

Do Erlenmeyerovy baňky bylo napipetováno 20 ml Fehlingova roztoku I a 20 ml Fehlingova roztoku II, směs byla zahřáta na 60°C . Do baňky bylo přidáno 10 ml roztoku vzorku a směs byla dále zahřívána až k varu. Var byl udržován přesně 2 minuty. Poté byla baňka ochlazená proudem studené vody. Vzniklá sraženina oxidu měďného klesla ke dnu a kapalina byla dekantována přes filtrační kelímek S4. Oxid měďný ve filtračním kelímku i v baňce byl stále udržován pod hladinou kapaliny. Nakonec byla sraženina kvantitativně přenesena na fritu a dokonale promyta horkou vodou. Filtrační kelímek byl přesazen na čistou odsávací baňku a sraženina byla rozpuštěna postupným přidáváním několika dávek 10 ml roztoku síranu železitého. Celková spotřeba roztoku síranu železitého činila asi 30-50 ml. Roztok v odsávací

baňce byl ihned titrován odměrným roztokem manganistanu draselného do slabě růžového zbarvení. Měření proběhlo jednou pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou

Čistý filtrační kelímek S4 byl vysušen v sušárně, následně přenesen do exikátoru a po vychlazení zvážen na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Do Erlenmeyerovy baňky bylo napipetováno 20 ml Fehlingova roztoku I a 20 ml Fehlingova roztoku II, směs byla zahřata na 60°C. Do baňky bylo přidáno 20 ml roztoku vzorku a směs byla dále zahřívána až k varu. Var byl udržován přesně 2 minuty. Poté byla baňka ochlazena proudem studené vody. Vzniklá sraženina oxidu měďného klesla ke dnu a kapalina byla dekantována přes zvážený filtrační kelímek. Oxid měďný ve filtračním kelímku i v baňce byl stále udržován pod hladinou kapaliny. Nakonec byla sraženina kvantitativně přenesena na fritu a dokonale promyta horkou vodou a třikrát ethanolem. Filtrační kelímek byl vložen do vyhřáté sušárny a sušen přesně 45 minut při teplotě 105°C. Po vychladnutí v exikátoru byl zvážen na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Měření proběhlo vždy dvakrát pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

3.5.4 Výpočet

Z průměrné spotřeby odměrného roztoku manganistanu draselného byla vypočítána přesná koncentrace tohoto roztoku dle vzorce (Rov. 7):

$$c_{KMnO_4} = \frac{2 \cdot m_{\text{šť}}}{5 \cdot M_{\text{šť}} \cdot V_{KMnO_4} \cdot F_{ZŘ}} \quad 7$$

kde:

c_{KMnO_4} ... přesná koncentrace roztoku manganistanu draselného v $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

$m_{\text{šť}}$... navážka dihydrátu kyseliny šťavelové v g

$M_{\text{šť}}$... molekulová hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové ($126,07 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$)

V_{KMnO_4} ... průměrná spotřeba roztoku manganistanu draselného v dm^3

$F_{ZŘ}$... faktor zředění $\left(\frac{100}{10}\right)$

Obsah redukujících cukrů stanovených metodou dle Bertranda byl vyjádřen v hmotnostních procentech pomocí vzorců (Rov. 8, 9, 10):

$$x = \frac{c_{KMnO_4} \cdot 3,315}{0,020} \quad 8$$

$$y = \frac{V_{KMnO_4} \cdot x \cdot F_{ZŘ}}{1} \quad 9$$

$$w = \frac{y}{m_{vz}} \quad 10$$

kde:

c_{KMnO_4} ... přesná koncentrace roztoku manganistanu draselného v $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

V_{KMnO_4} ... spotřeba roztoku manganistanu draselného v dm^3

$F_{ZŘ}$... faktor zředění $\left(\frac{100}{10}\right)$

w ... obsah redukujících cukrů v %

m_{vz} ... hmotnost vzorku v mg

Obsah redukujících cukrů stanovených gravimetrickou metodou byl vyjádřen v hmotnostních procentech pomocí vzorců (Rov. 11, 12, 13):

$$m_{Cu_2O} = (m_1 - m_0) \cdot 1000 \quad 11$$

$$x = \frac{m_{Cu_2O} \cdot 0,462 \cdot F_{ZŘ}}{1} \quad 12$$

$$w = \frac{x}{m_{vz}} \quad 13$$

kde:

m_{Cu_2O} ... hmotnost sraženiny Cu_2O v mg

m_0 ... hmotnost prázdného filtračního kelímku v g

m_1 ... hmotnost filtračního kelímku se sraženinou v g

$F_{ZŘ}$... faktor zředění $\left(\frac{100}{20}\right)$

w ... obsah redukujících cukrů v %

m_{vz} ... hmotnost vzorku v mg

3.6 Stanovení celkových anthokyanových barviv pH-diferenciální metodou

3.6.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- běžné laboratorní sklo
- automatická pipeta Sartorius Proline 100–1000 μl (Biohit, Finsko)
- automatická pipeta Sartorius Proline 1–5 ml (Biohit, Finsko)
- skleněná kyveta
- magnetické míchadlo
- stojan na zkumavky

- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)
- magnetická míchačka Color Squid (IKA-Werke, Německo)
- pH metr Lab pH 50 (XC Instruments, Itálie)
- UV/VIS spektrofotometr Helios (ThermoSpectronic, Velká Británie)
- chlorid draselný (Lachema, Česká republika)
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková (Penta, Česká republika)
- sodná sůl kyseliny octové p.a. (Lachema, Česká republika)

3.6.2 Příprava roztoků

Pufr chloridu draselného o pH 1,0 a koncentraci $0,025 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Na analytických vahách bylo naváženo 1,86 g KCl a navážka byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do kádinky na 1000 ml. Do kádinky bylo přidáno 980 ml destilované vody. Kádinka byla umístěna na magnetickou míchačku, do roztoku bylo vloženo míchadlo a ponořena pH-elektroda. Do roztoku byla postupně přikapávána koncentrovaná kyselina chlorovodíková až do hodnoty pH 1,0. Poté byl pufr převeden do odměrné baňky na 1000 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku.

Pufr octanu sodného o pH 4,5 a koncentraci $0,4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Na analytických vahách bylo naváženo 54,43 g CH_3COONa a navážka byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do kádinky na 1000 ml. Do kádinky bylo přidáno 980 ml destilované vody. Kádinka byla umístěna na magnetickou míchačku, do roztoku bylo vloženo míchadlo a ponořena pH-elektroda. Do roztoku byla postupně přikapávána koncentrovaná kyselina chlorovodíková až do hodnoty pH 4,5. Poté byl pufr převeden do odměrné baňky na 1000 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku.

3.6.3 Příprava vzorků a měření

Vzorky ostružinové šťávy, extraktu a pulpy byly rozmrazeny a promíchány. Poté byly v odměrných baňkách namíchány jejich roztoky s destilovanou vodou. Ředění bylo zvoleno dle intenzity zbarvení.

Do tří zkumavek bylo napipetováno 2,5 ml připraveného pufru chloridu draselného a 0,5 ml naředěného vzorku. Do dalších tří zkumavek bylo napipetováno 2,5 ml připraveného pufru octanu sodného a 0,5 ml naředěného vzorku. Roztoky byly promíchány. Takto připravené roztoky byly proměřeny na spektrofotometru při vlnových délkách 510 nm a 700 nm. Jako slepý vzorek byla použita destilovaná voda. Měření proběhlo pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

3.6.4 Výpočet

Celková koncentrace anthokyanů, vyjádřená jako ekvivalent kyanidu-3-glukosidu (CGE) byla vypočtena z následujícího vzorce (Rov. 14):

$$c_{MP} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot l} \quad 14$$

kde:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad 15$$

c_{MP} ... výsledná koncentrace monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorku v $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$

A ... výsledná hodnota absorpance

M ... molekulová hmotnost pro kyanid-3-glukosid ($449,2 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$)

F ... faktor zředění

ε ... molární absorpční koeficient pro kyanidin-3-glukosid ($26\,900 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l ... délka dráhy průchodu světla vzorkem = délka kyvety (1 cm)

3.7 Stanovení celkových fenolických látek metodou dle Folin-Ciocalteua

3.7.1 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

- běžné laboratorní sklo
- automatická pipeta Sartorius Proline 100–1000 μl (Biohit, Finsko)
- automatická pipeta Sartorius Proline 1–5 ml (Biohit, Finsko)
- skleněná kyveta
- stojan na zkumavky

- analytické váhy Pioneer (Ohaus, USA)
- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)
- UV/VIS spektrofotometr Helios (ThermoSpectronic, Velká Británie)

- kyselina gallová (Penta, Česká republika)
- bezvodý uhličitán sodný (Lachema, Česká republika)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)

3.7.2 Příprava roztoků

Standardní roztok kyseliny gallové o koncentraci $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$

Na analytických vahách bylo naváženo 0,1 g kyseliny gallové. Navážka byla rozpuštěna v 90 ml destilované vody a kvantitativně převedena do odměrné baňky na 100 ml. Roztok byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

7,5% roztok uhličitanu sodného

Na analytických vahách bylo naváženo 7,5 g uhličitanu sodného. Navážka byla rozpuštěna v 90 ml destilované vody a kvantitativně převedena do odměrné baňky na 100 ml. Roztok byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

Kalibrační řada

Byla připravena řada kalibračních roztoků o koncentraci 12,5; 25; 100; 200 a 400 mg·dm⁻³. Do šesti odměrných baněk na 10 ml bylo postupně napipetováno 0,125; 0,25; 1,0; 2,0 a 4,0 ml standardního roztoku kyseliny gallové. Roztok byl doplněn destilovanou vodou po značku.

Pro vlastní měření bylo do zkumavek napipetováno vždy 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml připraveného kalibračního standardu. Roztoky byly promíchány a ponechány stát 5 minut. Poté byl do každé zkumavky přidán 1,0 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného. Takto připravené roztoky byly promíchány, ponechány stát 2 hodiny a poté byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm. Slepý vzorek byl připraven stejně jako kalibrační řada, jen místo vzorku byl přidán stejný objem destilované vody.

3.7.3 Příprava vzorků a měření

Vzorky ostružinové šťávy, extraktu a pulpy byly rozmrazeny a promíchány. Poté byly v odměrných baňkách namíchány jejich roztoky s destilovanou vodou. Ředění bylo zvoleno dle intenzity zbarvení.

Do tří zkumavek bylo napipetováno vždy 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml zředěného vzorku. Roztoky byly promíchány a ponechány stát 5 minut. Poté byl do každé zkumavky přidán 1,0 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného. Takto připravené roztoky byly promíchány, ponechány stát 2 hodiny a poté byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm. Slepý vzorek byl připraven stejně jako roztok vzorku, jen místo vzorku byl přidán stejný objem destilované vody. Měření proběhlo pro vzorky šťávy, extraktu i pulpy.

3.7.4 Výpočet

Z rovnice regrese kalibrační křivky (Rov. 16) byl vypočítán celkový obsah fenolických látek ve vzorcích jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE) v mg·dm⁻³.

$$A = 0,004046 \cdot c + 0,01204 \quad 16$$

3.8 Statistické zpracování naměřených dat

Z naměřených dat byl při zpracování spočítán průměr a směrodatná odchylka. Naměřená data byla zpracována pomocí statistických funkcí programu Microsoft Excel; průměr hodnot prostřednictvím funkce PRŮMĚR a směrodatná odchylka prostřednictvím funkce SMODCH.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Extrakce a stanovení obsahu anthokyanových barviv ve výliscích

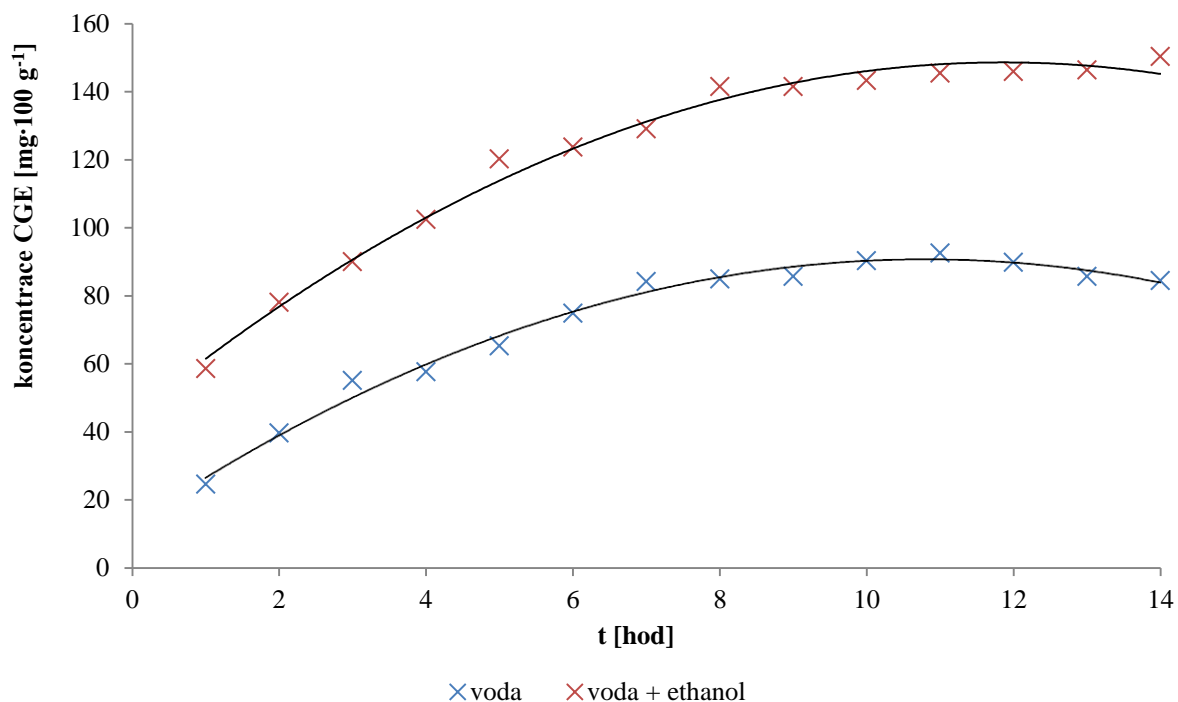
Cílem tohoto experimentu bylo najít jednak rozpouštědlo, které vyextrahuje větší množství anthokyanů, a jednak optimální dobu extrakce. Pro experiment byly zvoleny dva druhy rozpouštědel – destilovaná voda o teplotě 25°C (laboratorní teplota) a směs destilované vody a ethanolu v poměru 1 : 1 o teplotě 25°C (laboratorní teplota). Výlisky byly extrahovány dvakrát a extrakty byly připraveny dle postupu v kapitole 3.1.4.

Parametrem úspěšnosti extrakce byl celkový obsah anthokyanových barviv v závislosti na čase extrakce. Byl stanoven pH-diferenciální metodou. Přepočítávacím faktorem byl ekvivalent monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu (CGE), protože tento glukosid je dominantním anthokyanem v ostružinách.

Výsledky měření obsahu anthokyanových barviv v extraktu v závislosti na době extrakce uvádí Tabulka 5 a časové průběhy extrakcí znázorňuje Graf 1.

Tabulka 5: Obsah celkových anthokyanových barviv v extraktech z výlisků v mg CGE·100 g⁻¹

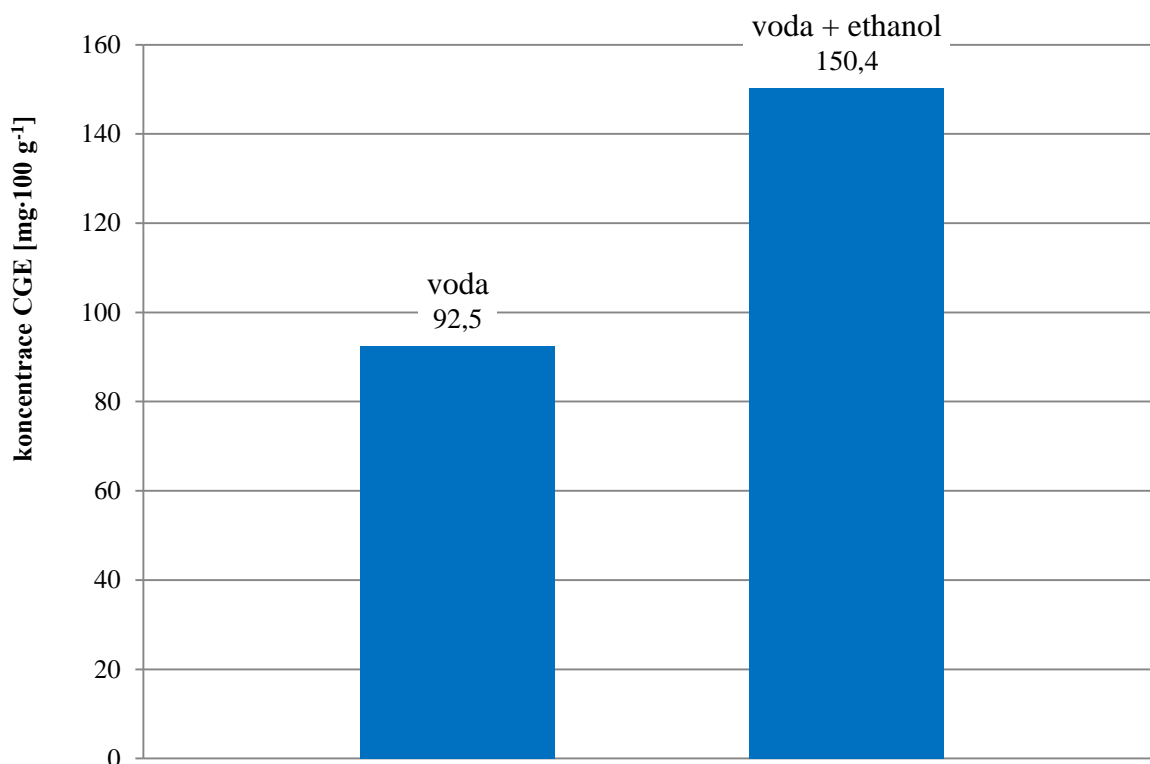
doba extrakce [hod]	mg CGE·100 g ⁻¹	
	voda	voda + ethanol
1	24,6	58,6
2	39,6	78,1
3	55,1	90,1
4	57,6	102,5
5	65,2	120,2
6	74,8	123,8
7	84,2	129,0
8	84,9	141,5
9	85,7	141,5
10	90,3	143,3
11	92,5	145,5
12	89,8	145,9
13	85,7	146,4
14	84,4	150,4



Graf 1: Porovnání časové závislosti extrakce anthokyanových barviv ve dvou různých rozpouštědlech

Z grafického znázornění časové závislosti extrakce anthokyanových barviv ve dvou různých rozpouštědlech je patrné, že maximálních koncentrací anthokyanů v destilované vodě bylo dosaženo v čase 11 hodin a maximálních koncentrací ve směsi voda a ethanol v čase 11 až 14 hodin.

Pro přehlednost byly do sloupcového diagramu (Graf 2) vyneseny hodnoty koncentrací anthokyanových barviv v časech nejlepších extrakcí pro obě rozpouštědla.



Graf 2: Obsah celkových anthokyanových barviv v jednotlivých extraktech v časech nejlepších extrakcí

Extrakcí ostružinových výlisků směsí voda a ethanol v poměru 1 : 1 za laboratorní teploty byl získán vyšší výtěžek anthokyanových barviv, 150,4 mg CGE·100 g⁻¹. Při extrakci vodou za laboratorní teploty bylo získáno 92,5 mg CGE·100 g⁻¹. Způsob extrakce směsí destilované vody a ethanolu lze považovat za nejúčinnější z provedených extrakcí.

Za podmínek nalezených tímto výchozím experimentem (extrakční činidlo voda : ethanol 1 : 1, dostačující čas pro maximální výtěžek barviva 14 hod.) byly ještě jednou extrahovány výlisky z českých ostružin a také výlisky z ostružin ukrajinských. Po 14 hod. byly extrakty zfiltrvány a celý jejich objem použit na stanovení vybraných charakteristik.

4.2 Stanovení sušiny sušením

Obsah sušiny ve vzorcích ostružin byl stanoven postupem uvedeným v kapitole 3.2. Pro oba druhy ostružin byl experiment proveden třikrát. Ze získaných hodnot byl následně vypočítán aritmetický průměr. Výsledné hodnoty uvádí Tabulka 6.

Tabulka 6: Obsah celkové sušiny ve dvou druzích ostružin v hm. %

ČR	UA
94,2 ± 0,1	94,8 ± 0,2

Obsah celkové sušiny v oštruhách pochádzajúcich z Ukrajiny bol stanoven na $94,8 \pm 0,2$ hm. %. Obsah celkové sušiny u oštruh z Českej republiky bol o niečo nižší, $94,2 \pm 0,1$ hm. %. Dle tabelovaných hodnot je obsah sušiny 84,7 hm. % [11]. Rozdiel mohl byť spôsoben tým, že stanovení proběhlo ze zmraženého ovoce, které již ztratilo určité množství vody.

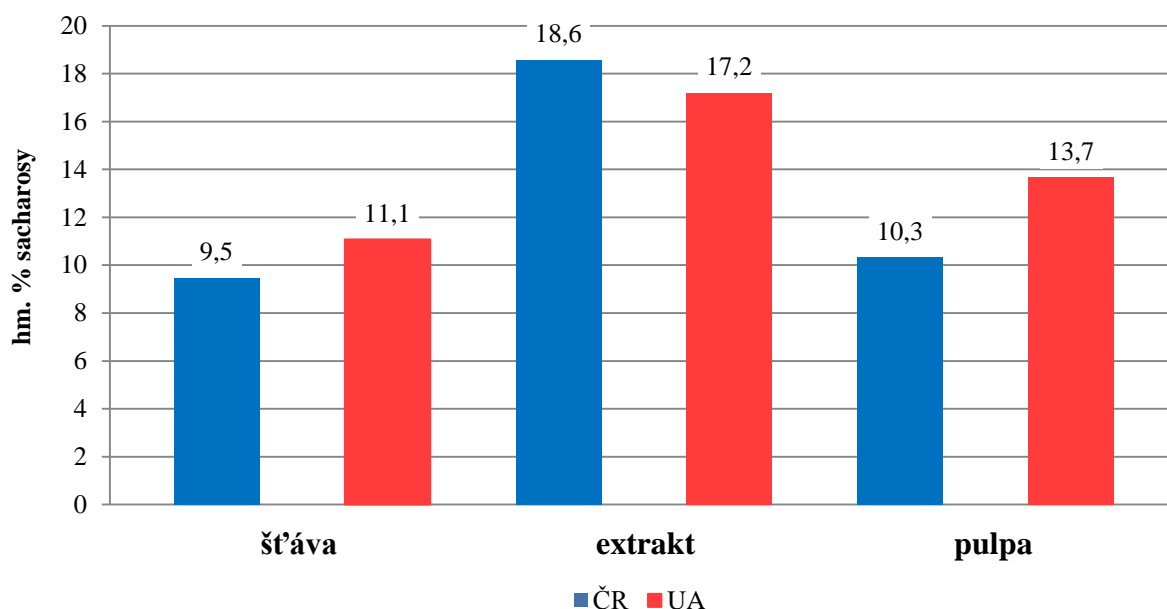
4.3 Refraktometrické stanovení cukerné sušiny

Obsah refraktometricky stanovené cukerné sušiny je uveden v hmotnostních procentech sacharosy. Měření proběhlo pro každý vzorek šťávy, extraktu i pulpy třikrát. Hodnoty u pulpy byly kvůli ředění vynásobeny číslem 2,5. Výsledky měření uvádí Tabulka 7.

Tabulka 7: Výsledné hodnoty indexu lomu a hm. % sacharosy

	šťáva		extrakt		pulpa	
	ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
index lomu	1,3470	1,3495	1,3615	1,3592	1,3390	1,3410
hm. % sacharosy	9,5	11,1	18,6	17,2	10,3	13,7

Pro přehlednost byly do sloupcového diagramu (Graf 3) vyneseny hodnoty obsahu sacharosy v jednotlivých vzorcích.



Graf 3: Obsah sacharosy v jednotlivých vzorcích

Obsah cukerné sušiny ve vzorcích šťávy s hodnotami 9,5 hm. % u českých oštruh a 11,1 hm. % u ukrajinských oštruh je mírně nižší než obsah cukerné sušiny ve vzorcích pulpy. V pulpě z českých oštruh bylo stanoven 10,3 hm. % cukerné sušiny a v pulpě

z ukrajinských ostružin 13,7 hm. % cukerné sušiny. U vzorků z ukrajinských ostružin byly hodnoty cukerné sušiny vyšší než u vzorků pocházejících z České republiky. U vzorků extraktů jsou hodnoty cukerné sušiny výrazně vyšší. To je pravděpodobně způsobeno tím, že v extrakční směsi (destilovaná voda a ethanol) bylo rozpuštěno více látek, které ovlivnily index lomu. Proto při tomto experimentu nebyl extrakt porovnáván se šťávou a pulpou. Obsah cukerné sušiny je závislý na odrůdě, stupni zralosti, velikosti plodů, roční a denní době sklizně, skladovacích podmínkách a jiných faktorech [12].

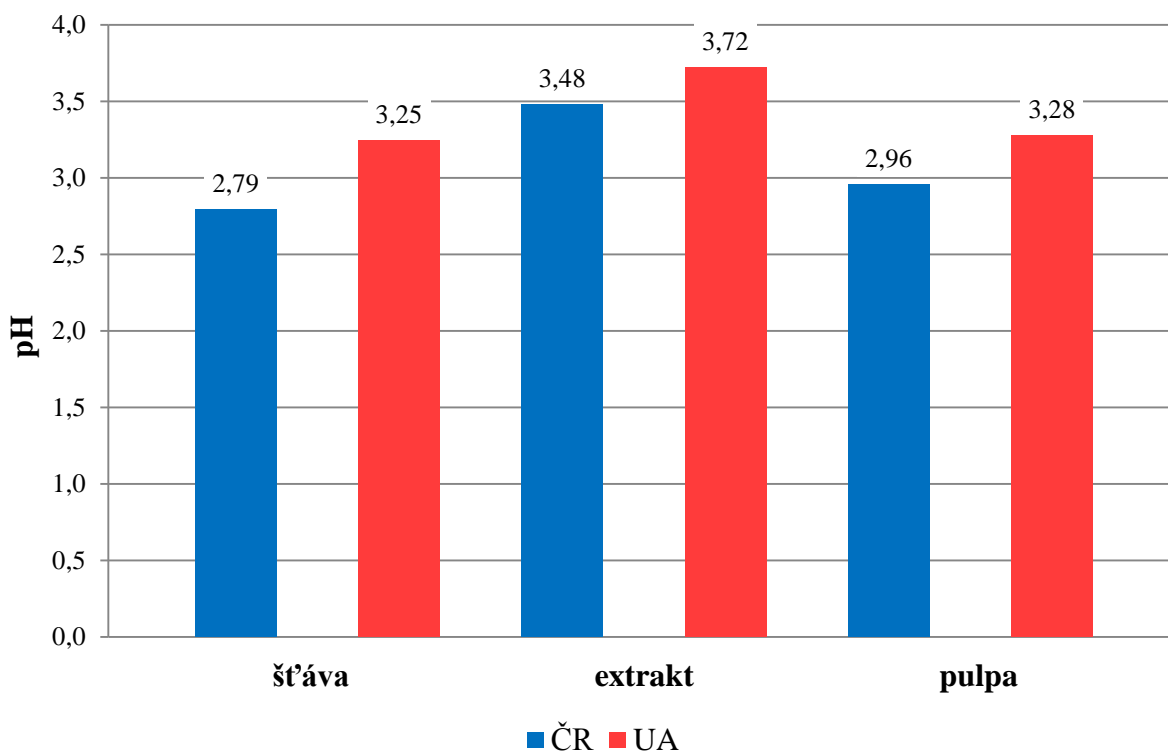
4.4 Stanovení pH a titrační kyselosti

Stanovení pH bylo provedeno přímým měřením pH metrem. Výsledné hodnoty uvádí Tabulka 8.

Tabulka 8: Hodnoty pH jednotlivých vzorků

šťáva		extrakt		pulpa	
ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
2,79 ± 0,02	3,25 ± 0,01	3,48 ± 0,00	3,72 ± 0,04	2,96 ± 0,00	3,28 ± 0,00

Pro přehlednost byly do sloupcového diagramu (Graf 4) vyneseny hodnoty pH jednotlivých vzorků.



Graf 4: Hodnoty pH jednotlivých vzorků

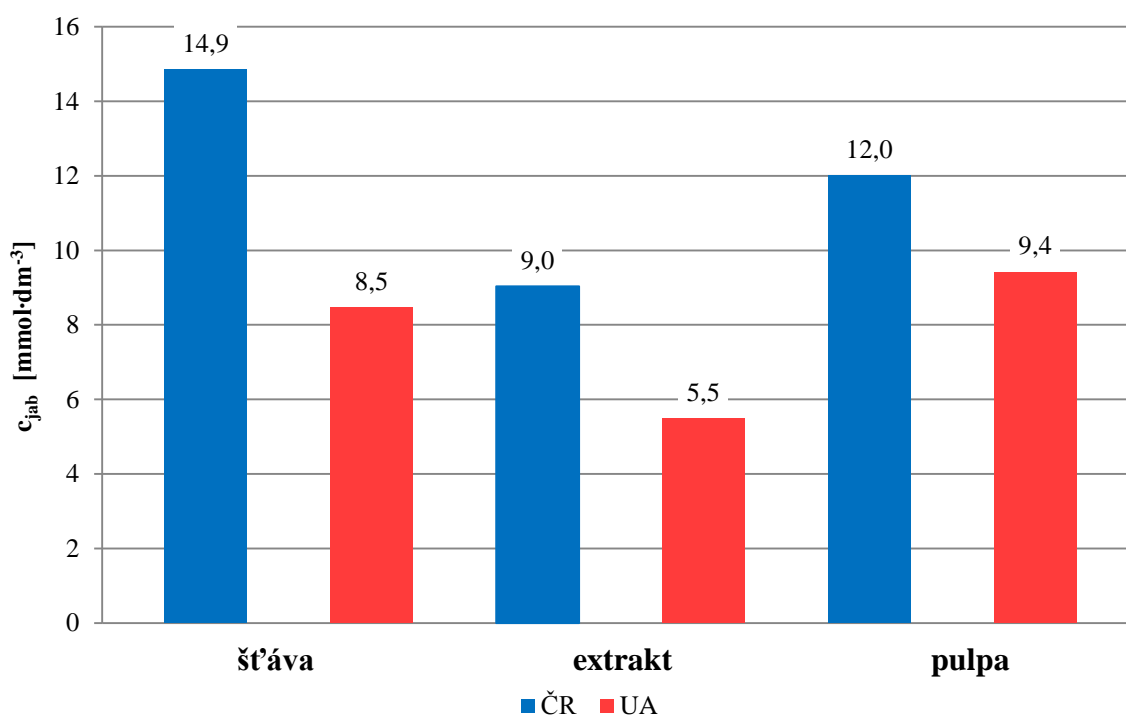
Jako nejkyselejší ze studovaných vzorků byla stanovena šťáva s hodnotami pH $2,79 \pm 0,02$ u českých ostružin a $3,25 \pm 0,01$ u ukrajinských ostružin. Vzorky pulpy s hodnotami pH $2,96 \pm 0,00$ u českých ostružin a $3,28 \pm 0,00$ u ukrajinských byly méně kyselé. Nejvyšších hodnot pH dosáhly vzorky extraktu s hodnotami $3,48 \pm 0,00$ u českých ostružin a $3,72 \pm 0,04$ u ukrajinských ostružin. U vzorků z ukrajinských ostružin byly hodnoty pH celkově vyšší než u vzorků pocházejících z České republiky.

Titrační kyselost vzorků je uvedena jako obsah kyseliny jablečné v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Měření proběhlo pro každý vzorek šťávy, extraktu i pulpy třikrát. Výsledné hodnoty u extraktu byly přepočítány na 100 g výlisků. Hodnoty u pulpy byly kvůli ředění vynásobeny číslem 2,5. Výsledky měření uvádí Tabulka 9.

Tabulka 9: Obsah kyseliny jablečné v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

šťáva		extrakt		pulpa	
ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
14,9	8,5	9,0	5,5	12,0	9,4

Pro přehlednost byl do sloupcového diagramu (Graf 5) vynesena obsah kyseliny jablečné v jednotlivých vzorcích.



Graf 5: Obsah veškerých titrovatelných kyselin v $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Obsah titrovatelných kyselin byl přepočítaný na obsah majoritní kyseliny, v ostružinách je jí kyselina jablečná. Nejvyššího obsahu této kyseliny dosahovala šťáva z českých ostružin s hodnotou $14,9 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, tento vzorek měl i nejnižší hodnotu pH. Naopak nejnižšího obsahu kyseliny jablečné dosáhl vzorek extraktu z ukrajinských ostružin s hodnotou $5,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, hodnota pH tohoto vzorku byla nejvyšší. Vzorky z ostružin pocházejících z České republiky obsahovaly více kyseliny jablečné než vzorky z ostružin ukrajinských. Získané hodnoty dokazují, že se zvyšující se kyselostí (obsahem kyseliny jablečné) klesá hodnota pH.

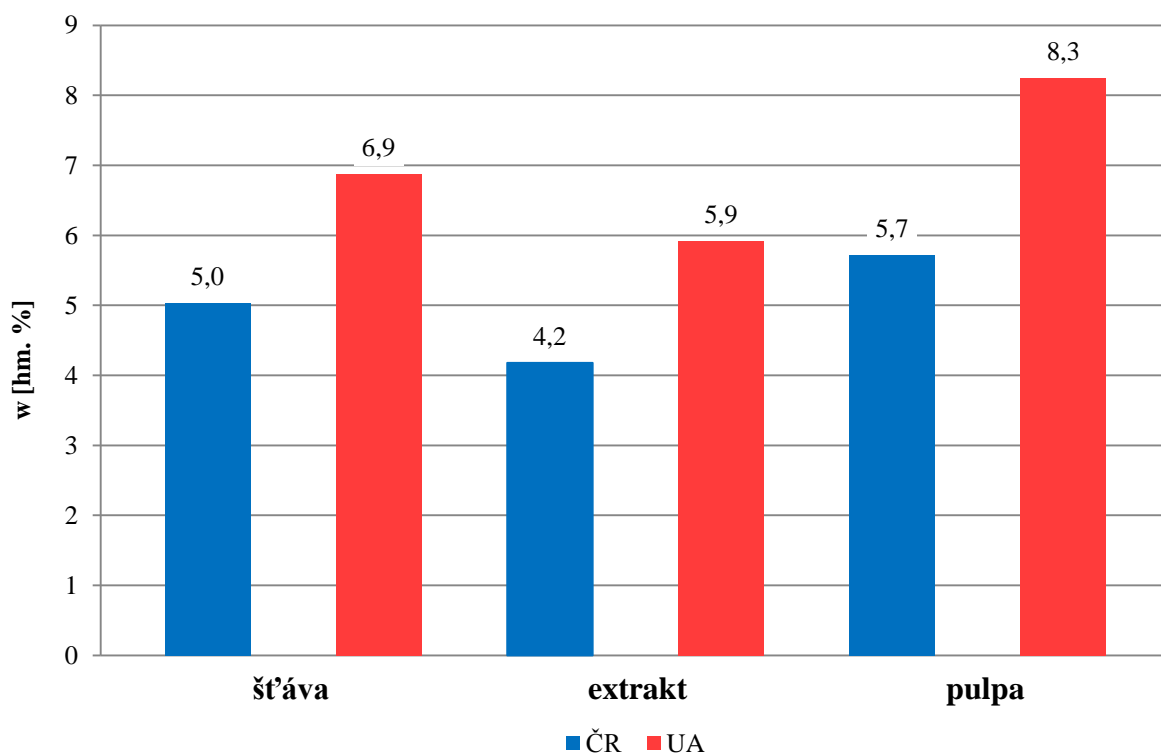
4.5 Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda a gravimetrickou metodou

Obsah redukujících cukrů byl stanoven metodou dle Bertranda a gravimetrickou metodou. Obě metody jsou popsány v kapitole 3.5. Pro každý vzorek šťávy, extraktu i pulpy proběhlo jedno stanovení dle Bertranda a dvě stanovení gravimetrickou metodou. Z těchto stanovení byl pro každý vzorek vypočítán průměr. Výsledné hodnoty u extraktu byly přepočítány na 100 g výlisků. Hodnoty u pulpy byly kvůli ředění vynásobeny číslem 2,5. Výsledky měření uvádí Tabulka 10.

Tabulka 10: Obsah redukujících cukrů v hm. % v jednotlivých vzorcích

šťáva		extrakt		pulpa	
ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
5,0	6,9	4,2	5,9	5,7	8,3

Pro přehlednost byl do sloupcového diagramu (Graf 6) vynesena obsah redukujících cukrů v jednotlivých vzorcích.



Graf 6: Obsah redukujících cukrů v jednotlivých vzorcích

Z grafického znázornění výsledků je patrné, že největší obsah redukujících cukrů měla pulpa z ukrajinských ostružin s hodnotou 8,3 hm. %. Hodnoty obsahu redukujících cukrů u pulpy byly o něco vyšší než hodnoty u šťávy. Nejméně redukujících cukrů obsahovaly extrakty. To je zřejmě způsobeno tím, že redukující cukry jsou v ethanolu méně rozpustné než ve vodě. Vzorky z ostružin pocházející z České republiky obsahovaly méně redukujících cukrů než vzorky z ostružin ukrajinských. Obsah cukrů v ovoci je závislý na odrůdě, stupni zralosti, velikosti plodů, roční a denní době sklizně, skladovacích podmínkách a jiných faktorech [12].

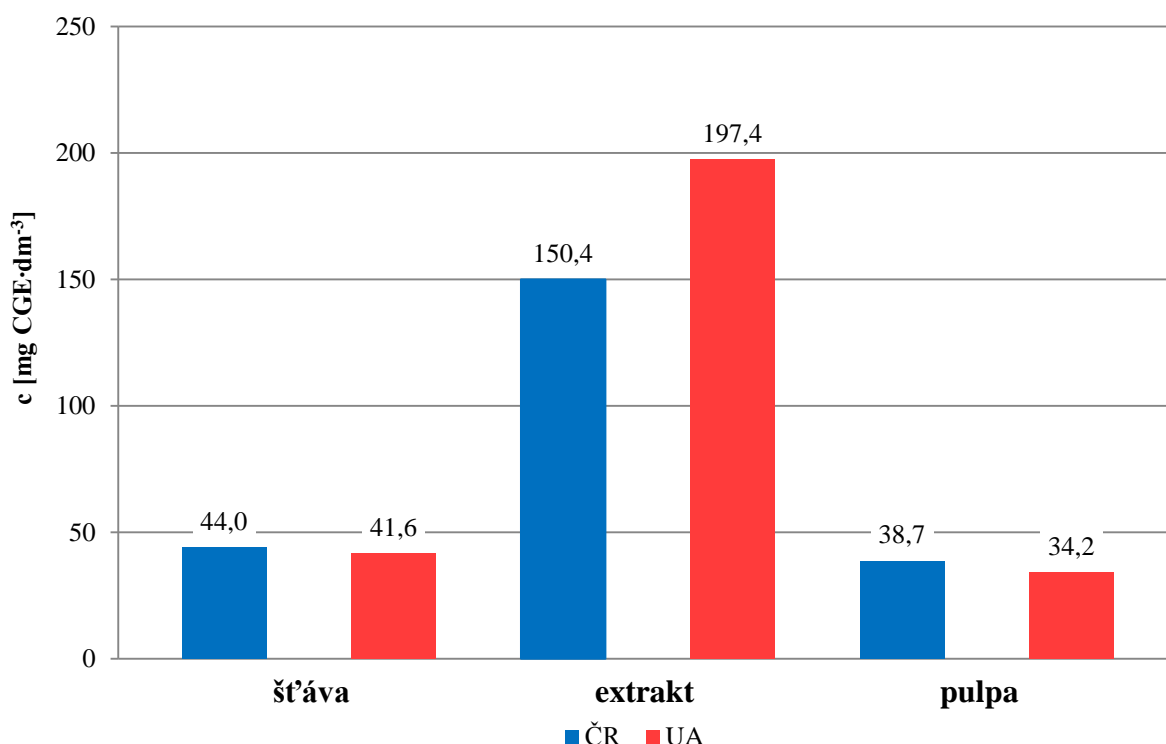
4.6 Stanovení celkových anthokyanových barviv pH-diferenciální metodou

Celkový obsah anthokyanových barviv byl stanoven pH-diferenciální metodou, která je popsána v kapitole 3.6. Měření proběhlo pro každý vzorek šťávy, extraktu i pulpy třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr. Výsledné hodnoty u extraktu byly přepočítány na 100 g vylisků. Hodnoty u pulpy byly kvůli ředění vynásobeny číslem 2,5. Výsledky měření uvádí Tabulka 11.

Tabulka 11: Obsah anthokyanových barviv v mg CGE·dm⁻³

šťáva		extrakt		pulpa	
ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
44,0	41,6	150,4	197,4	38,7	34,2

Pro přehlednost byl do sloupcového diagramu (Graf 7) vynesena obsah anthokyanových barviv v jednotlivých vzorcích.



Graf 7: Obsah anthokyanových barviv v mg CGE·dm⁻³

Koncentrace anthokyanových barviv u extraktu z českých ostružin byla stanovena na 150,4 mg CGE·dm⁻³ a u extraktu z ukrajinských ostružin na 197,4 mg CGE·dm⁻³. Obsah anthokyanových barviv v extraktech byl mnohonásobně vyšší než jejich obsah ve šťávě a pulpě. Zdůvodněním tohoto výsledku může být to, že použitá extrakční směs (destilovaná voda a ethanol) je dobrým rozpouštědlem těchto barviv a také to, že výlisky obsahují větší množství barviv než šťáva. Z hodnot obsahu anthokyanů ve šťávě a v pulpě vyplývá, že české ostružiny obsahují více anthokyanových barviv než ukrajinské ostružiny. Extrakty z českých a ukrajinských ostružin lze porovnávat jen s určitou chybou. Extrakt z českých ostružin byl totiž získán za postupného odebírání vzorků a současným ředěním extrakční směsí. Zatímco extrakt z ukrajinských ostružin byl připraven odebráním celého objemu extraktu naráz, bez současného ředění.

4.7 Stanovení celkových fenolických látek metodou dle Folin-Ciocalteua

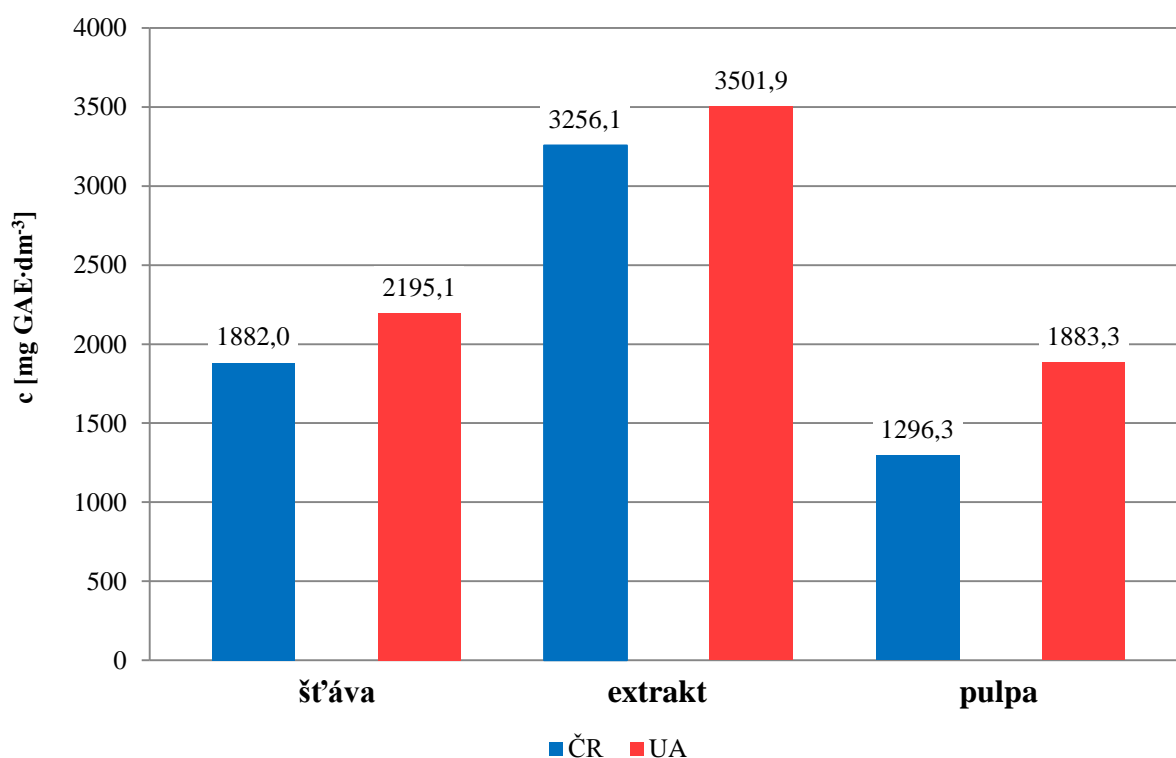
Celkový obsah fenolických látek byl stanoven metodou dle Folin-Ciocalteua, která je popsána v kapitole 3.7. Měření proběhlo pro každý vzorek šťávy, extraktu i pulpy třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr. Výsledné hodnoty u extraktu byly přepočítány

na 100 g výlisků. Hodnoty u pulpy byly kvůli ředění vynásobeny číslem 2,5. Výsledky měření uvádí Tabulka 12.

Tabulka 12: Obsah fenolických látek v mg GAE·dm⁻³

šťáva		extrakt		pulpa	
ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
1882,0	2195,1	3256,1	3501,9	1296,3	1883,3

Pro přehlednost byl do sloupcového diagramu (Graf 8) vynesena obsah fenolických látek v jednotlivých vzorcích.



Graf 8: Obsah fenolických látek v jednotlivých vzorcích

Z grafického znázornění výsledků je patné, že největší obsah fenolických látek byl stanoven v extraktech, u ukrajinských ostružin to bylo 3501,9 mg GAE·dm⁻³ a u českých 3256,1 mg GAE·dm⁻³. Tak jako u obsahu anthokyanových barviv, i zde může být zdůvodněním to, že použitá extrakční směs (destilovaná voda a ethanol) je dobrým rozpouštědlem těchto látek, a že výlisky obsahují větší množství fenolických látek než šťáva. Vzorky z ostružin pocházejících z České republiky obsahovaly méně fenolických látek než vzorky z ostružin ukrajinských.

5 ZÁVĚR

Ostružiny jsou z hlediska obsahových látek bohatým zdrojem antioxidantů. Proto bylo náplní této bakalářské práce shrnout informace o tomto ovoci a zjistit a srovnat vybrané chemické a fyzikální charakteristiky ostružinové šťávy, pulpy a extraktu z ostružinových výlisků.

V teoretické části práce je uvedena botanická charakteristika ostružiníku, obsah biologicky aktivních látek v jeho plodech a využití ostružin v potravinářství. Pozornost je také věnována popisu vybraných fenolických látek a experimentálním postupům pro stanovení pH a titrovatelných kyselin v ovocných šťávách.

Cílem experimentální části bylo zhodnotit 2 extrakční činidla vybraná pro extrakce ostružinových výlisků. Dále bylo cílem stanovit vybrané chemické a fyzikální vlastnosti (sušinu, refraktometrickou sušinu, pH, titrační kyselost, obsah redukujících cukrů, anthokyanových barviv a fenolických látek) v získaných extraktech, ostružinové šťávě a v pulpě z ostružin. Všechny tyto analýzy byly provedeny jednak pro české ostružiny a jednak pro ostružiny sbírané ve volné přírodě na Ukrajině.

Z hlediska obsahu anthokyanových barviv byla lepším extrakčním činidlem směs destilované vody a ethanolu v poměru 1 : 1. Po 14 hod. macerace bylo získáno ze 100 g ostružinových výlisků 150,4 mg anthokyanových barviv.

Obsah celkové sušiny u ostružin ukrajinských i u českých byl srovnatelný, $94,8 \pm 0,2$ hm. % a $94,2 \pm 0,1$ hm. %.

Obsah cukerné sušiny se u vzorků šťávy a pulpy pohyboval v rozmezí 9,5–13,7 hm. %. Nejvyšší hodnoty dosahovala pulpa z ukrajinských ostružin.

Jako nejkyselejší ze zkoumaných vzorků byla stanovena šťáva z českých ostružin s hodnotou pH $2,79 \pm 0,02$ a s obsahem kyseliny jablečné $14,9 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Hodnoty pH u vzorků se pohybovaly v rozmezí 2,79–3,72. Rozmezí obsahu kyseliny jablečné ve zkoumaných vzorcích bylo $5,5\text{--}14,9 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Získané hodnoty dokazují, že se zvyšující se titrační kyselostí (přepočítanou na majoritní kyselinu ostružin) klesá hodnota pH.

Nejvyšší obsah redukujících cukrů měla pulpa z ukrajinských ostružin, a to 8,3 hm. %. Obsah cukrů u ostatních vzorků se pohyboval v rozmezí 4,2–8,3 hm. %. Nejméně redukujících cukrů obsahovaly extrakty, což je zřejmě způsobeno tím, že redukující cukry jsou v ethanolu méně rozpustné než ve vodě.

U extraktů z ostružinových výlisků byla stanovena mnohonásobně vyšší koncentrace anthokyanových barviv než u vzorků šťávy a pulpy. Extrakt z ukrajinských ostružin obsahoval $197,4 \text{ mg CGE} \cdot \text{dm}^{-3}$ a extrakt z českých ostružin $150,4 \text{ mg CGE} \cdot \text{dm}^{-3}$. Hodnoty u ostatních vzorků se pohybovaly v rozmezí $34,2\text{--}44,0 \text{ mg CGE} \cdot \text{dm}^{-3}$. Z výsledků vyplývá, že výlisky obsahují větší množství barviv než šťáva.

I fenolických látek bylo nejvíce stanoveno v extraktech. U ukrajinských ostružin to bylo $3501,9 \text{ mg GAE} \cdot \text{dm}^{-3}$ a u českých $3256,1 \text{ mg GAE} \cdot \text{dm}^{-3}$. Hodnoty u ostatních vzorků se pohybovaly v rozmezí $1296,3\text{--}2195,1 \text{ mg GAE} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Při porovnání ostružin českých a ukrajinských lze říci, že ukrajinské mohly být pravděpodobně více vyzrálé, neboť obsahovaly více fenolických látek, více nebo srovnatelně anthokyanových barviv a rovněž více redukujících sacharidů. Naopak české ostružiny měly více titrovatelných kyselin.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Plants Database. *United States Department of Agriculture* [online]. Washington, DC: USDA, 2017 [cit. 2017-01-06]. Dostupné z: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=RUFR80>
- [2] LUŽA, Josef a kol. *Rybíz, angrešt, maliny, ostružiny a jahody*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1967. ISBN 07-020-67.
- [3] SUS, Josef a Jan BLAŽEK. *Obrazový atlas peckovin*. Praha: Květ, 2002. Knihovnička Zahrádkáře. ISBN 80-853-6244-9.
- [4] *Elektronický Herbář* [online]. [cit. 2017-04-08]. Dostupné z: http://www.e-herbar.net/main.php?g2_itemId=43803
- [5] *Elektronický Herbář* [online]. [cit. 2017-04-08]. Dostupné z: http://www.e-herbar.net/main.php?g2_itemId=29184
- [6] ZIA-UL-HAQ, Muhammad, Muhammad RIAZ, Vincenzo DE FEO, Hawa JAAFAR a Marius MOGA. *Rubus Fruticosus L: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses*. *Molecules* [online]. 2014, **19**(8), 10998-11029 [cit. 2017-01-06]. DOI: 10.3390/molecules190810998. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/8/10998/>
- [7] DUŠKOVÁ, Ludmila a Jan KOPŘIVA. *Pěstujeme maliny, ostružiny a borůvky*. Praha: Grada, 2003. Česká zahrada. ISBN 80-247-0532-X.
- [8] *Elektronický Herbář* [online]. [cit. 2017-04-08]. Dostupné z: http://www.e-herbar.net/main.php?g2_itemId=30761
- [9] DLOUHÁ, Jana. *Pěstujeme jahodník, maliník, ostružiník*. Praha: Brázda, 2003. ISBN 80-209-0315-1.
- [10] *Velký atlas odrůd ovoce a révy*. Lanškroun: TG TISK, c2002, s. 112. ISBN 80-238-9461-7.
- [11] Databáze složení potravin ČR verze 4.13: Ústav zemědělské ekonomiky a informací a Výzkumný ústav potravinářský. *Nutridatabase.cz: Databáze složení potravin pro Českou republiku* [online]. Praha, 2013 [cit. 2017-01-05]. Dostupné z: <http://www.nutridatabase.cz/>
- [12] BLAŽEK, Jan. *Ovocnictví*. 2. nezm. vyd. Praha: Květ, 2001. ISBN 80-853-6243-0.
- [13] *Drobné ovoce a skořápkoviny: přes 140 barevných fotografií a popisů odrůd*. Olomouc: Baštan, 2013, s. 104-105. ISBN 978-80-87091-40-1.
- [14] ZADERNOWSKI, Ryszard, Marian NACZK a Jarosław NESTEROWICZ. Phenolic Acid Profiles in Some Small Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, **53**(6), 2118-2124. DOI: 10.1021/jf040411p. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf040411p>
- [15] TANAKA, Yoshikazu, Nobuhiro SASAKI a Akemi OHMIYA. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* [online]. 2008, **54**(4), 733-749 [cit. 2017-04-19]. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x. ISSN 0960-7412. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>
- [16] E163. *Zdravá potravina* [online]. [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: <http://www.zdravapotravina.cz/seznam-ecek/E163>
- [17] HAGER, Tiffany J., Luke R. HOWARD a Ronald L. PRIOR. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blackberry Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, **56**(3), 689-695. DOI: 10.1021/jf071994g. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf071994g>

- [18] *Aronieprozdravi.cz - výrobky z aronie* [online]. 2014 [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: www.aronieprozdravi.cz
- [19] VERMA, Rameshwar, Tushar GANGRADE, Chetan GHULAXE a Rakesh PUNASIYA. Rubus fruticosus (blackberry) use as an herbal medicine. *Pharmacognosy Reviews*. 2014, **8**(16), 101-. DOI: 10.4103/0973-7847.134239. ISSN 0973-7847. Dostupné také z: <http://www.phcogrev.com/text.asp?2014/8/16/101/134239>
- [20] SIRIWOHARN, Thanyaporn, Ronald E. WROLSTAD, Chad E. FINN a Clifford B. PEREIRA. Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (Rubus L. Hybrids) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, **52**(26), 8021-8030. DOI: 10.1021/jf048619y. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf048619y>
- [21] MANGANARIS, George A, Vlasios GOULAS, Ariel R VICENTE a Leon A TERRY. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014, **94**(5), 825-833. DOI: 10.1002/jsfa.6432. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.6432>
- [22] RICE-EVANS, Catherine, Nicholas MILLER a George PAGANGA. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 1997, **2**(4), 152-159. DOI: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2. ISSN 13601385. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1360138597010182>
- [23] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902-3915-3.
- [24] SZAJDEK, Agnieszka, E. J. BOROWSKA, Raquel DEL PINO-GARCÍA, M. Dolores RIVERO-PÉREZ a Pilar MUÑIZ-RODRÍGUEZ. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition* [online]. 2008, **63**(4), 147-156 [cit. 2017-04-15]. DOI: 10.1007/s11130-008-0097-5. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-008-0097-5>
- [25] SANTOS-BUELGA, Celestino, Nuno MATEUS a Victor DE FREITAS. Anthocyanins. *Plant Pigments and Beyond* [online]. [cit. 2017-04-17]. DOI: 10.1021/jf501950s. ISBN 10.1021/jf501950s. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf501950s>
- [26] WANG, Wei-Dong a Shi-Ying XU. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate: note II. *Journal of Food Engineering* [online]. 2007, **82**(3), 271-275 [cit. 2017-05-13]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.01.018. ISSN 02608774. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877407000635>
- [27] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravin*. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1991. ISBN 80-227-0374-5.
- [28] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravin: cvičenie*. 2. vyd. Bratislava: STU, 1991. ISBN 80-227-0398-2.
- [29] ENCYKLOPEDIA - MĚŘÍCÍ PŘÍSTROJE - pH metr, měřiče vodivosti, hlukoměr, luxmetr, digitální otáčkoměr, digitální multimetry, detektory kovů a elektrického vedení, osobní detektory (indikátory) vysokého napětí, oxymetr - měření koncentrace kyslíku. *MĚŘÍCÍ PŘÍSTROJE - TEPLoměRY, VLHKOMĚRY, METEOROLOGICKÁ STANICE, METEOSTANICE, DIGITÁLNÍ MULTIMETRY, KLEŠŤOVÉ AMPÉRMETRY, DETEKTORY KOVŮ, DIGITÁLNÍ VÁHY a ZÁVĚSNÉ VÁHY, MINCÍŘE, ZVLHČOVAČE, ODVLHČOVAČE, VYSOUŠEČE, OUTDOOROVÉ VYBAVENÍ - teploměr vpichovací, kapalinový, infra, bezkontaktní,*

bimetalový, vlhkoměr vlasový [online]. [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: http://e-pristroje.com/encyklopedie_mericipristroje.html

- [30] HOSTAŠOVÁ, Božena, Libuše VLACHOVÁ a Eduard NĚMEC. *Domácí konzervování ovoce a zeleniny*. Praha: Avicentrum, Zdravotnické nakladatelství, 1980. ISBN 735 21-08/31 08-018-87.
- [31] KAUME, Lydia, Luke R. HOWARD a Latha DEVAREDDY. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, **60**(23), 5716-5727. DOI: 10.1021/jf203318p. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf203318p>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CGE	ekvivalent kyanidin-3-glukosidu
ČR	Česká republika
EMN	elektromotorické napětí
FCH	Fakulta chemická
GAE	ekvivalent kyseliny gallové
PET	polyethylentereftalát
UA	Ukrajina
USA	Spojené státy americké
UV	ultrafialové záření
VIS	viditelné záření
VUT	Vysoké učení technické

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Recept na ostružinovou marmeládu	49
Příloha 2: Tabulky – stanovení anthokyanových barviv	49
Příloha 3: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení celkové sušiny	52
Příloha 4: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení pH a titrační kyselosti	52
Příloha 5: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení redukujících cukrů.....	53
Příloha 6: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení anthokyanových barviv	54
Příloha 7: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení fenolických látek	55
Příloha 8: Kalibrační křivka kyseliny gallové.....	56

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Recept na ostružinovou marmeládu

Potřebujeme: Zahradní nebo lesní ostružiny; na 1 kg ostružinového protlaku 500 g cukru, 40 g práškové Petosy (1 balíček), 4 g kyseliny citrónové.

Ostružiny přebereme, nejlépe na nakloněném plechu, po menších dávkách rychle propláchneme na cedníku pod tekoucí vodou, v kastrole rozmačkáme, podlijeme několika lžicemi vody a rozvaříme. Měkké ostružiny prolisujeme přes síto nebo na speciálním mlýnku na lisování ovoce. Odváženou dávku ostružinového protlaku dáme do širokého kastrolu a vaříme. Když se objem protlaku zmenší asi o třetinu, přidáme čtvrtinu stanovené dávky cukru a 5 minut vaříme. Práškovou Petosu smícháme s moučkovým cukrem (pětinásobek hmotnosti Petosy) a vmícháme do marmelády. Po rozpuštění přisypeme zbývající cukr po troškách tak, aby se var nepřerušil, a vaříme dále. Ke konci varu přidáme kyselinu citrónovou rozpuštěnou ve lžici vody. Když marmeláda houstne, provedeme zkoušku na rosolování (do marmelády ponoříme vařečku, vyjmeme ji a otáčíme ve vodorovné poloze, až marmeláda trochu ztuhne. Pak ji necháme stéci na hranu vařečky, stéká-li v souvislé vrstvě a pak padá ve větších kusech, nikoli v kapkách, marmeláda je hotová). Tvoří-li se při vaření pěna, sebereme ji až ke konci varu. Vařící marmeládu plníme až po okraje do skleniček ovitých vlhkou utěrkou, okraje rychle otřeme, hned upevníme víčka, skleničky obrátíme dnem vzhůru a necháme vychladnout. Před uskladněním skleničky otřeme vlhkou utěrkou [30].

Příloha 2: Tabulky – stanovení anthokyanových barviv

Tabulka 13: Naměřené hodnoty absorbancí a výpočet koncentrací anthokyanů pro extrakci voda 25°C

voda 25°C							
dobu extrakce [hod]	acetátový pufr (pH 4,5)		chloridový pufr (pH 1,0)		výpočet (ředění 11,11x)		
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A	c [mg·dm ⁻³]	c·100 g ⁻¹ výlisků
1	0,013	0,005	0,044	0,003	0,033	6,2	24,6
	0,013	0,005	0,045	0,003			
	0,013	0,006	0,044	0,004			
2	0,017	0,007	0,065	0,003	0,054	10,0	39,6
	0,017	0,008	0,069	0,004			
	0,017	0,007	0,069	0,006			
3	0,027	0,014	0,095	0,008	0,075	13,9	55,1
	0,028	0,016	0,099	0,010			
	0,029	0,014	0,096	0,008			
4	0,050	0,017	0,116	0,014	0,078	14,5	57,6
	0,040	0,015	0,118	0,011			
	0,040	0,018	0,120	0,015			

Tabulka 14: Pokračování Tabulka 13

voda 25°C							
dobu extrakce [hod]	acetátový pufr (pH 4,5)		chloridový pufr (pH 1,0)		výpočet (ředění 11,11x)		
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A	c [mg·dm ⁻³]	c·100 g ⁻¹ výlisků
5	0,039	0,016	0,116	0,009	0,088	16,4	65,2
	0,040	0,016	0,117	0,008			
	0,033	0,014	0,121	0,006			
6	0,040	0,020	0,128	0,011	0,101	18,8	74,8
	0,040	0,019	0,131	0,010			
	0,039	0,019	0,138	0,011			
7	0,032	0,015	0,145	0,013	0,114	21,2	84,2
	0,035	0,016	0,145	0,013			
	0,033	0,017	0,143	0,013			
8	0,044	0,019	0,157	0,018	0,115	21,3	84,9
	0,046	0,019	0,160	0,017			
	0,045	0,019	0,158	0,017			
9	0,042	0,020	0,161	0,021	0,116	21,5	85,7
	0,045	0,020	0,162	0,021			
	0,045	0,020	0,160	0,021			
10	0,043	0,023	0,163	0,020	0,122	22,7	90,3
	0,045	0,025	0,164	0,023			
	0,044	0,024	0,165	0,022			
11	0,047	0,026	0,174	0,031	0,125	23,3	92,5
	0,050	0,027	0,178	0,026			
	0,049	0,027	0,176	0,029			
12	0,044	0,022	0,163	0,018	0,122	22,6	89,8
	0,044	0,022	0,162	0,020			
	0,044	0,023	0,162	0,019			
13	0,048	0,023	0,163	0,025	0,116	21,5	85,7
	0,045	0,025	0,161	0,022			
	0,046	0,024	0,162	0,024			
14	0,047	0,023	0,157	0,019	0,114	21,2	84,4
	0,045	0,024	0,157	0,021			
	0,046	0,023	0,157	0,020			

Tabulka 15: Naměřené hodnoty absorbancí a výpočet koncentrací anthokyanů pro extrakci směs voda + ethanol 25°C

směs voda + ethanol 25°C							
doba extrakce [hod]	acetátový pufr (pH 4,5)		chloridový pufr (pH 1,0)		výpočet (ředění 20x)		
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A	c [mg·dm ⁻³]	c·100 g ⁻¹ výlisků
1	0,012	0,001	0,062	0,004	0,044	14,7	58,6
	0,015	0,003	0,053	0,001			
	0,013	0,002	0,058	0,002			
2	0,024	0,001	0,079	0,002	0,059	19,6	78,1
	0,026	0,002	0,089	0,003			
	0,024	0,001	0,085	0,002			
3	0,029	0,002	0,101	0,002	0,068	22,6	90,0
	0,034	0,002	0,097	0,002			
	0,031	0,002	0,099	0,002			
4	0,032	0,002	0,105	0,001	0,077	25,7	102,5
	0,030	0,002	0,110	0,002			
	0,031	0,002	0,108	0,002			
5	0,021	0,002	0,111	0,002	0,090	30,2	120,2
	0,025	0,002	0,117	0,003			
	0,023	0,002	0,114	0,003			
6	0,013	0,002	0,109	0,004	0,093	31,1	123,8
	0,019	0,004	0,111	0,004			
	0,016	0,003	0,110	0,004			
7	0,015	0,004	0,113	0,003	0,097	32,4	129,1
	0,020	0,006	0,116	0,007			
	0,018	0,005	0,115	0,005			
8	0,019	0,005	0,121	0,003	0,106	35,5	141,5
	0,017	0,007	0,122	0,004			
	0,018	0,006	0,122	0,003			
9	0,019	0,006	0,123	0,004	0,106	35,5	141,5
	0,020	0,006	0,125	0,004			
	0,020	0,006	0,124	0,004			
10	0,020	0,008	0,125	0,004	0,108	36,0	143,3
	0,020	0,007	0,126	0,005			
	0,022	0,007	0,126	0,005			
11	0,016	0,002	0,126	0,002	0,109	36,5	145,5
	0,017	0,001	0,127	0,002			
	0,017	0,002	0,126	0,002			

Tabulka 16: Pokračování Tabulka 15

směs voda + ethanol 25°C							
dobu extrakce [hod]	acetátový pufr (pH 4,5)		chloridový pufr (pH 1,0)		výpočet (ředění 20x)		
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A	c [mg·dm ⁻³]	c·100 g ⁻¹ výlisků
12	0,016	0,003	0,128	0,004	0,110	36,6	145,9
	0,019	0,004	0,126	0,002			
	0,018	0,003	0,127	0,003			
13	0,017	0,002	0,130	0,003	0,110	36,7	146,4
	0,016	0,002	0,130	0,005			
	0,017	0,002	0,126	0,004			
14	0,018	0,005	0,131	0,006	0,113	37,7	150,4
	0,017	0,002	0,131	0,001			
	0,018	0,003	0,131	0,004			

Příloha 3: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení celkové sušiny

Tabulka 17: Obsah celkové sušiny ve dvou druzích ostružin v hm. %

měření	ČR	UA
1	94,3	94,8
2	94,2	94,6
3	94,2	95,0
průměr	94,2	94,8

Příloha 4: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení pH a titrační kyselosti

Tabulka 18: Hodnoty pH jednotlivých vzorků

	šťáva		extrakt		pulpa	
	ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
hodnota pH	2,76	3,23	3,48	3,68	2,95	3,27
	2,80	3,26	3,48	3,77	2,96	3,28
	2,82	3,25	3,48	3,72	2,96	3,28
průměr	2,79	3,25	3,48	3,72	2,96	3,28

Tabulka 19: Spotřeba NaOH a hodnoty titrační kyselosti

	šťáva		extrakt		pulpa	
	ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
spotřeba NaOH [ml]	21,3	12,3	3,3	2,0	7,0	5,5
	21,6	12,3	3,3	2,0	6,9	5,4
	21,8	12,3	3,3	2,0	7,0	5,5
průměrná spotřeba NaOH	21,6	12,3	3,3	2,0	7,0	5,5
c_{H^+} [mmol·dm ⁻³]	221,8	126,5	33,9	20,6	71,6	56,2
c_{jab} [mmol·dm ⁻³]	14,9	8,5	9,0	5,5	12,0	9,4

Příloha 5: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení redukujících cukrů**Tabulka 20: Obsah redukujících cukrů v hm. % v jednotlivých vzorcích**

	šťáva		extrakt		pulpa	
	ČR	UA	ČR	UA	ČR	UA
dle Bertranda	5,1	6,9	1,1	1,5	2,4	3,4
gravimetricky	5,1	6,9	1,1	1,5	2,3	3,1
gravimetricky	4,9	6,9	1,0	1,5	2,2	3,4
průměr	5,0	6,9	1,1	1,5	2,3	3,3
přepočítané hodnoty	5,0	6,9	4,2	5,9	5,7	8,3

Příloha 6: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení anthokyanových barviv

Tabulka 21: Naměřené hodnoty absorbancí a vypočítané hodnoty koncentrací anthokyanů

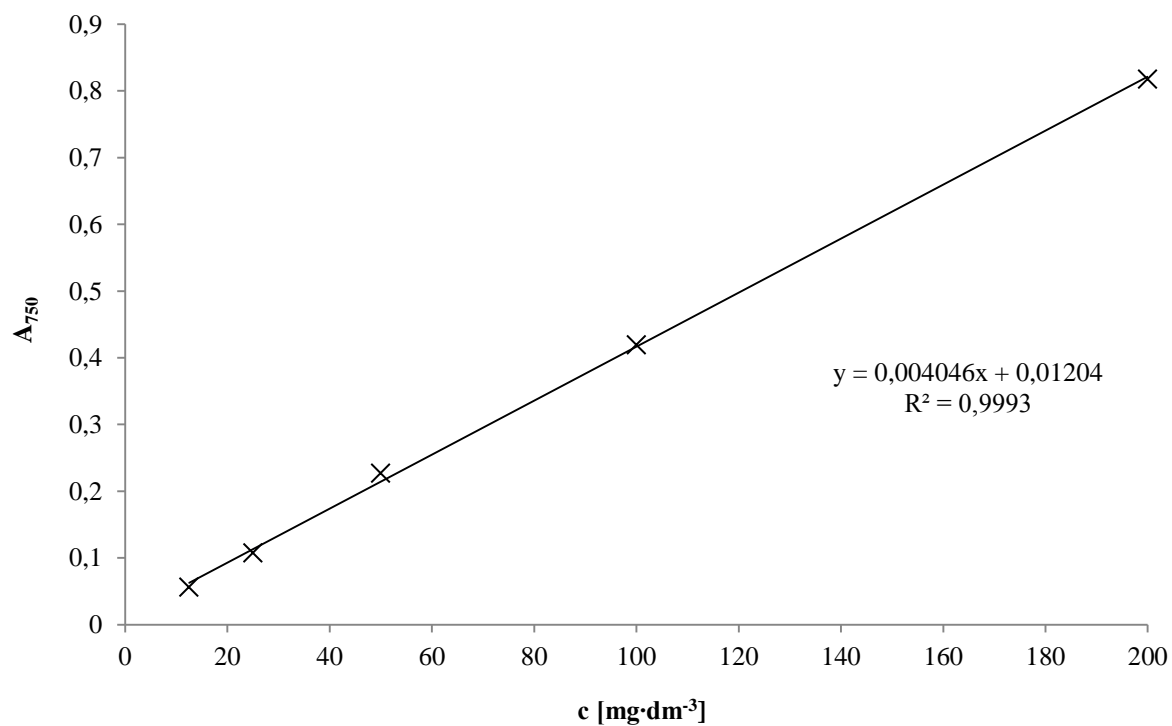
		acetátový pufr (pH 4,5)		chloridový pufr (pH 1,0)		výpočet (ředění 20x)	
		A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A	c [mg·dm ⁻³]
šťáva	ČR	0,005	0,001	0,136	0,001	0,132	44,0
		0,005	0,001	0,137	0,000		
		0,006	0,001	0,136	0,000		
	UA	0,038	0,016	0,158	0,016	0,125	41,6
		0,032	0,016	0,156	0,014		
		0,032	0,016	0,158	0,014		
extrakt	ČR	0,018	0,005	0,131	0,006	0,113	150,4
		0,017	0,002	0,131	0,001		
		0,018	0,003	0,131	0,004		
	UA	0,012	0,005	0,161	0,004	0,149	197,4
		0,012	0,004	0,156	0,002		
		0,011	0,004	0,159	0,002		
pulpa	ČR	0,017	0,008	0,061	0,006	0,046	38,7
		0,018	0,008	0,062	0,005		
		0,018	0,008	0,062	0,006		
	UA	0,027	0,013	0,063	0,008	0,041	34,2
		0,026	0,012	0,063	0,008		
		0,027	0,013	0,063	0,008		

Příloha 7: Naměřené a vypočítané hodnoty pro stanovení fenolických látek

Tabulka 22: Naměřené hodnoty absorbancí a vypočítané hodnoty koncentrací fenolických látek

		A ₇₅₀	A	c [mg GAE·dm ⁻³]
šťáva	ČR	0,174	0,164	1882,0
		0,162		
		0,157		
	UA	0,216	0,190	2195,1
		0,173		
		0,180		
extrakt	ČR	0,082	0,078	3256,1
		0,096		
		0,057		
	UA	0,087	0,083	3501,9
		0,080		
		0,083		
pulpa	ČR	0,059	0,054	1296,3
		0,031		
		0,072		
	UA	0,064	0,073	1883,3
		0,081		
		0,074		

Příloha 8: Kalibrační křivka kyseliny gallové



Graf 9: Kalibrační křivka kyseliny gallové